

**Universidad Nacional**  
**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Escuela de Ciencias Biológicas**  
**Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y**  
**Dulceacuícolas**

**Informe Escrito Final**

**Posicionamiento taxonómico del género *Neogonodactylus* mediante  
marcadores moleculares y biometría en Bahía Santa Elena y Bahía Thomas,  
Pacífico Norte, Costa Rica**

**Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y  
Dulceacuícolas**

**B.Sc. Alonso Alvarado Mora: (1-1500-0407; 102658)**

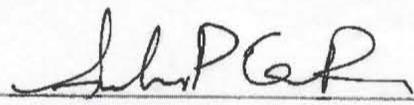
**Campus Omar Dengo**  
**Heredia, 2020**

Este trabajo de graduación fue aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y Dulceacuícolas.



---

Dr. Jorge Alfaro Montoya  
Representante, Decano, quién preside



---

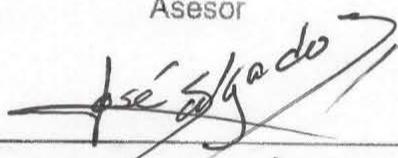
Dra. Andrea Garcia Rojas  
Representante, Unidad Académica

---

M.Sc. Jorge Cortés Núñez  
Tutor

---

M.Sc. Rodolfo Umaña Castro  
Asesor



---

Dr. José Salgado Barragán  
Invitado especial

## **Agradecimientos**

Quiero comenzar agradeciendo a todas las personas y organizaciones que confiaron en mí, y por las diferentes formas de apoyo brindadas.

En primer lugar, agradecer a mi madre por su apoyo incondicional, parte fundamental en mi desarrollo. A Debbie López, por su ayuda, apoyo, ánimos, sin importar la situación o momento.

A Rodolfo Umaña, quien desempeñó un papel fundamental, por su confianza y perseverancia, por su disposición y su ayuda, por ser un motor importante para el desarrollo de este proyecto. A Carolina Sancho Blanco, por su paciencia, y por todas sus enseñanzas. A Don Jorge Cortés y a Rita Vargas por su ayuda, así como el tiempo, dedicación invertida.

A FOCAES (Fondos para el Fortalecimiento de las Capacidades Estudiantiles), por la confianza depositada en mí, su apoyo fue esencial para el desarrollo del proyecto, su contribución permitió el procesamiento y análisis posterior de las muestras. Al Laboratorio de Análisis Genómico de la Universidad Nacional de Costa Rica (LAGEN), por la gran infraestructura con la que cuenta, tanto humana (brillantes asistentes), así como a sus instalaciones, la cual permitió todo el análisis de las muestras, iniciando con la extracción hasta la secuenciación.

Al Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica, al proyecto BioMar-ACG, por las muestras previamente colectadas que se utilizaron para fortalecer y complementar el estudio. A los parataxónomos Yelba Vega y Gilberth Ampie, por su ayuda en la colecta e identificación de especies. Finalmente, a Kaylen González, por sus observaciones y aportes en la elaboración de este trabajo.

## **Dedicatoria**

Para abuelo. Gracias infinitas.

## Índice

Miembros del Tribunal .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Agradecimientos .....	3
Dedicatoria .....	4
Índice.....	5
Índice de cuadros .....	6
Índice de figuras.....	7
Abreviaturas o acrónimos .....	8
Resumen.....	9
1. Introducción .....	10
1.1 Antecedentes .....	10
1.2 Justificación.....	13
1.3 Planteamiento del problema.....	14
1.4 Objetivos .....	15
1.4.1 Objetivo general .....	15
1.4.2. Objetivos específicos .....	15
2. Marco teórico .....	15
3. Marco metodológico .....	21
4. Resultados .....	29
5. Discusión.....	42
6. Conclusiones .....	48
7. Recomendaciones .....	49
8. Referencias bibliográficas.....	50

9. Anexos ..... ¡Error! Marcador no definido.

## Índice de cuadros

Cuadro 1 .....	29
Cuadro 2.....	32
Cuadro 3.....	35
Cuadro 4.....	37

## Índice de figuras

Figura 1 .....	16
Figura 2 .....	18
Figura 3 .....	23
Figura 4 .....	25
Figura 5 .....	26
Figura 6 .....	31
Figura 7 .....	31
Figura 8 .....	33
Figura 9 .....	35
Figura 10 .....	36
Figura 11 .....	39
Figura 12 .....	40
Figura 13 .....	42

## **Abreviaturas o acrónimos**

ACG	Área de Conservación Guanacaste
BioMar-ACG	Proyecto de inventario de la biodiversidad marina del Área de Conservación Guanacaste
CIMAR	Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología
LAGEN	Laboratorio de Análisis Genómico de la Universidad Nacional de Costa Rica
MZUCR	Museo de Zoología, Universidad de Costa Rica
NCBI	National Center for Biotechnology Information
UCR	Universidad de Costa Rica
UNA	Universidad Nacional de Costa Rica

## Resumen

Los estomatópodos poseen una morfología que los distingue del resto de especies de la clase Malacostraca, las características que más destacan son, los ojos, los maxílpedos, los apéndices raptoriales, el telson y la placa del rostro. Se estudiaron las relaciones entre las especies del género *Neogonodactylus* (Manning, 1995), *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae*, *N. stanschi* y *N. zacaе*, en el Pacífico Norte de Costa Rica, por medio de análisis biométricos y genéticos, específicamente los marcadores moleculares COI y 28s. Por medio de estos análisis se logró detectar individuos con características diagnósticas de dos especies distintas, *N. costaricensis* y *N. bahiahondensis*, estos fueron denominados “*N. costaricensis* – *N. bahiahondensis*”. El análisis de componentes principales permitió determinar las características que más diferencian a las especies, éstas se encuentran en el telson, específicamente el largo de la carina intermedia y su carina accesoria, y en la placa del rostro, el ancho de dicha placa, así como el ancho de la base de la placa. El análisis morfológico, junto con las construcciones filogenéticas lograron separar a los individuos denominados “*N. costaricensis* – *N. bahiahondensis*”, de las especies con las que comparten mayor número de características. A pesar de lo anterior, las relaciones no quedan del todo claras entre las especies del género, por lo tanto, es necesario realizar una mayor cantidad de estudios, con mayor número de marcadores moleculares para poder responder cuáles son las relaciones existentes entre las especies del género, así como el origen de las especies con características de dos especies distintas.

# 1. Introducción

Los estomatópodos son crustáceos que poseen una morfología que los distingue del resto de especies de la clase Malacostraca, de las cuales los ojos, los maxilípedos, el rostro y el telson son las características más destacadas (Reaka & Manning, 1981; Reaka, Camp, Álvarez & Vazqu ez-Bader, 2009). Dichas características son utilizadas para la descripción e identificación taxonómica. Sin embargo, con el desarrollo de nuevas técnicas basadas en biología molecular (Mattes, 1998) se llevó a cabo una revolución en la sistemática, lo que permitió resolver conflictos taxonómicos y, además corroborar la identidad de especies previamente descritas basadas en características morfológicas (Sanz, 2005).

## 1.1 Antecedentes

Los estomatópodos han sido foco de interés para la comunidad científica debido a que poseen una morfología distintiva, dentro de las características más notorias, se encuentran la forma de los ojos y los apéndices o garras raptorales. Es por esta razón que, la mayoría de estudios sobre estomatópodos se han enfocado en el mecanismo y el funcionamiento de la visión. Lo anterior se ve reflejado en el estudio realizado por Cheroske, Barber y Cronin (2006), donde se determinó que los estomatópodos adultos poseen la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones lumínicas en función de la profundidad, por medio de la modificación del espectro visual. Por otro lado, Claverie, Chan y Patek (2011) realizaron un estudio en Hawái, para investigar el funcionamiento del mecanismo de amplificación de los apéndices raptorales de los estomatópodos, específicamente en *Gonodactylaceus falcatus*, indicando que existe una correlación positiva entre el tamaño corporal y la capacidad del poder de amplificación de dichos apéndices.

Los estudios a nivel global han tenido un enfoque experimental, centrados principalmente en características de comportamiento (Caldwell & Dingle, 1975; Caldwell, 1985), alimentación (de Vries, 2012) y análisis de hábitat (Vetter & Caldwell, 2015). Por ejemplo, Caldwell y Dingle, (1975) realizaron un estudio sobre el comportamiento agonístico de los estomatópodos, donde

destacaron comportamientos agresivos y rituales de combate por espacio, tanto en individuos de la misma especie como en individuos de especies diferentes.

Respecto a la identificación taxonómica de especies, es necesario destacar que a partir del estudio realizado por Manning (1995), las investigaciones enfocadas en la correcta identificación taxonómica fueron en aumento. En dicha investigación, tomando en cuenta características morfológicas y rangos de distribución geográfica, se separaron las especies americanas del género *Gonodactylus* de las del resto del mundo, estableciendo de este modo un nuevo género, *Neogonodactylus*.

Es por esta razón que, en décadas recientes, las investigaciones taxonómicas se han enfocado generalmente en análisis de relaciones filogenéticas, con el propósito de aclarar las relaciones evolutivas del Orden Stomatopoda. En estas investigaciones se concluyó que existen cinco superfamilias dentro del Orden Stomatopoda, siendo estas Bathysquilloidea, Erythroosquilloidea, Gonodactyloidea, Parasquilloidea y Squilloidea (Ahyong, 1997; Ahyong & Harling, 2000). Por su parte, Barber y Erdmman (2000) realizaron la primera filogenia de la familia Gonodactylidae, perteneciente a la superfamilia Gonodactyloidea, donde utilizaron el marcador molecular citocromo oxidasa I (COI), con el fin de corroborar la identidad taxonómica de algunas especies pertenecientes a esta familia; comprobaron que mediante el uso de estas técnicas genéticas es posible resolver problemas de identificación de especies, demostraron que *Gonodactylus mutatus* y *Gonodactylus aloha* son la misma especie (Feller, Cohen & Cronin, 2015), conocida actualmente como *Gonodactylaceus falcatus*.

Con respecto a la familia Gonodactylidae en Costa Rica, específicamente con el género *Neogonodactylus*, los estudios realizados han tenido un enfoque descriptivo y taxonómico. Incluso, a partir de la información obtenida de algunas de estas investigaciones, se ha logrado elaborar inventarios de presencia o ausencia de especies en diversas localidades del país, principalmente en la costa Pacífica. Manning y Reaka (1979), describieron dos nuevas especies del género *Neogonodactylus* (*N. albicinctus* y *N. costaricensis*) siendo ambas endémicas de Costa Rica. Seguidamente, en 1980, estos mismos autores publicaron el libro “*The Distributional Ecology and Zoogeographical Relationships of Stomatopod Crustacea from Pacific of Costa*

Rica” (Reaka & Manning, 1980), en el cual brindaron información como características distintivas, hábitat y distribución de cada especie encontradas a lo largo de la costa Pacífica de Costa Rica, incluyendo la mayoría de especies del género *Neogonodactylus*.

Posteriormente, Vargas y Cortés (1997) publicaron un inventario de la biodiversidad del orden Stomatopoda en el país. Reportaron la presencia de 30 especies de estomatópodos, lo cual, en su momento, era equivalente al 70% de la biodiversidad reportada de Stomatopoda para el Pacífico Tropical Oriental. Específicamente para el género *Neogonodactylus* reportaron la presencia de *N. albicinctus*, *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae*, *N. oerstedii* y *N. zacaе* y adicionalmente, recopilaron información general de las especies, hábitat, distribución e informes previos en diferentes zonas.

De manera similar, Solano-Barquero (2011) publicó un estudio de los lechos de rodolitos y su macrofauna asociada en el Parque Nacional Isla del Coco, donde reveló información de la presencia y comportamiento de *N. zacaе*. Se logró determinar que esta especie es un componente importante para este hábitat, debido a que representó hasta un 40 % de la composición de la fauna en estos ecosistemas. Asimismo, se observó que era habitual encontrarlo en parejas y en estadios juveniles.

Cortés y colaboradores (2012), hicieron un estudio exhaustivo de la biodiversidad marina de Bahía Culebra, donde reportaron la presencia de *N. bahiahondensis* y *N. lalibertadensis*. Finalmente, la investigación más reciente realizada en Costa Rica en cuanto a la diversidad del orden Stomatopoda, corresponde al trabajo de Vargas y Vargas-Zamora (2020), los cuales elaboraron una lista de especies actualizada de macro-crustáceos, específicamente decápodos y estomatópodos, colectados en Golfo Dulce y depositados en la colección del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR). Identificaron 102 especies de decápodos y 4 de estomatópodos, siendo *N. zacaе* la única especie del género *Neogonodactylus* reportada en este estudio.

Con base a los estudios de la familia Gonodactylidae en cuanto a morfología, diversidad, riqueza e importancia ecológica, se resalta que la correcta identificación taxonómica resulta ser

relevante para conocer con exactitud cuáles son las especies que conforman un determinado ecosistema, evaluar cambios temporales en la diversidad y abundancia de especies, además, facilita el conocimiento del estado de conservación de cada una de ellas.

## 1.2 Justificación

El género *Neogonodactylus* contiene 22 especies exclusivas del continente americano, su distribución está comprendida entre el Pacífico Tropical Oriental y el Atlántico Occidental, con 8 y 14 especies respectivamente. Debido a la diferencia en el número de especies presentes entre las regiones del continente, la cantidad de información disponible en una y otra es muy diferente, siendo la región del Atlántico Occidental donde se ha realizado la mayor cantidad de investigaciones sobre el género *Neogonodactylus* (*N. oerstedii* y *N. bredini* son las especies más estudiadas); motivo por el cual, se conocen algunas características generales del género, tales como: una longitud total que oscila entre 40-80 mm y además su preferencia a hábitats rocosos, escombros de coral y zonas inter-mareales.

Debido a la asociación de estos organismos con hábitats coralinos, se ha determinado que son un importante componente alimenticio para la fauna de este ecosistema, tal es el caso de peces globo, meros, peces león, pulpos (de Vries, 2012) y rayas en estadio juvenil (Ebert & Cowley, 2004). Aunado a esto, Saucedo (2000) y Andrade-Rodríguez (2003) revelaron que algunas especies costeras de importancia comercial como pargo mancha (*Lutjanus guttatus*) y pargo seda (*Lutjanus peru*), se alimentan mayoritariamente de estomatópodos durante sus estados juveniles.

Por otro lado, Jackson y colaboradores (1989) investigaron la respuesta de un arrecife panameño luego de haber sufrido un derrame de petróleo, en este estudio se planteó el potencial de los miembros de la familia Gonodactylidae para ser utilizados como bioindicadores del ecosistema. A pesar de la evidente importancia ecológica que cumplen estos animales, en la actualidad se desconoce el estado de conservación de las especies que conforman esta familia. Para obtener este tipo de información y conocer más de cada especie, es fundamental identificarlas correctamente.

Sin embargo, en algunas ocasiones no se tiene certeza de la identificación taxonómica de las especies, lo cual se debe a que existen descripciones ambiguas de especies, características muy similares entre algunas especies e incluso, existen variaciones no descritas. Por esta razón, en los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías, principalmente de biología molecular, que permiten aclarar la identificación taxonómica de una gran cantidad de especies. Por ejemplo, Barber y Erdmann (2000), quienes lograron demostrar que al utilizar técnicas moleculares es posible determinar la posición taxonómica de especies de la familia Gonodactylidae.

Dentro del género *Neogonodactylus*, no está claramente definida la identificación taxonómica de *N. zacaе* para el país, lo cual se debe a variaciones encontradas en coloración, tamaño y grosor de las carinas del telson de los organismos que se tienen en colección del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica. Por tanto, un aporte de esta investigación es obtener información morfológica, morfométrica y molecular de *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae*, *N. stanschi* y *N. zacaе*, especies encontradas en el Pacífico Norte de Costa Rica.

Aunado a lo anterior, la correcta identificación taxonómica permitiría la elaboración de guías de identificación dicotómica, las cuales pueden ser utilizadas para identificar de manera adecuada las especies encontradas en análisis de contenido estomacal de especies de importancia comercial como pargos, siendo un posible indicio de zonas de crianza de estas especies. Además, pretende fundamentar bases para futuros estudios sobre este género, por ejemplo, conectividad genética entre poblaciones a pequeña y a gran escala, así como identificar si existe variación genética entre las especies del Pacífico y del Atlántico.

### **1.3 Planteamiento del problema**

La información acerca del género *Neogonodactylus*, en la región del Pacífico Tropical Oriental resulta ser deficiente, debido a que la mayor parte de los estudios realizados se basan en inventarios de presencia de especies. Por esta razón, resulta ser de gran utilidad una investigación más detallada en la que el uso de marcadores moleculares y mediciones morfométricas permita responder ¿Cuál es la composición de especies de este género en Bahía Santa Elena y Bahía Thomas y el efecto que ejerce sobre éstas el grado de protección de cada sitio?

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Caracterizar la composición de especies del género *Neogonodactylus* en Bahía Santa Elena y Bahía Thomas, Pacífico Norte de Costa Rica, mediante análisis biométricos y de marcadores moleculares para que dicha información contribuya al conocimiento de la biología y además funcione como base para futuros estudios del género.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

1. Establecer una identificación taxonómica de las especies del género *Neogonodactylus*, presentes en Bahía Santa Elena y Bahía Thomas, Pacífico de Costa Rica, mediante el uso de técnicas moleculares.
2. Caracterizar morfológicamente las especies del género *Neogonodactylus* presente en dos bahías del Pacífico Norte de Costa Rica con diferente grado de protección, por medio de análisis biométricos.
3. Comparar abundancia, diversidad y posibles interacciones de las especies del género *Neogonodactylus* encontradas en ambos sitios de muestreo, determinando la posible influencia que ejerza el grado de protección sobre estos.

## **2. Marco teórico**

Dentro de la clase Crustacea, se encuentra el orden Stomatopoda, el cual es el único orden superviviente del superorden Hoplocarida. A su vez, su morfología lo convierte en uno de los órdenes morfológicamente más distintivos entre los crustáceos (Figura 1), debido a que los apéndices torácicos se encuentran cercanos a la región oral. El origen del nombre

“Stomatopoda”, conocidos comúnmente como estomatópodos o camarones mantis, proviene del griego, donde “stomatos” significa boca y “poda” pies (Salgado-Barragán y Hendrickx, 2010, Schram et al., 2013). Este orden está compuesto por siete superfamilias, 17 familias, 106 géneros y 450 especies (Ahyong & Harling, 2000; Ahyong & Jarman, 2009).

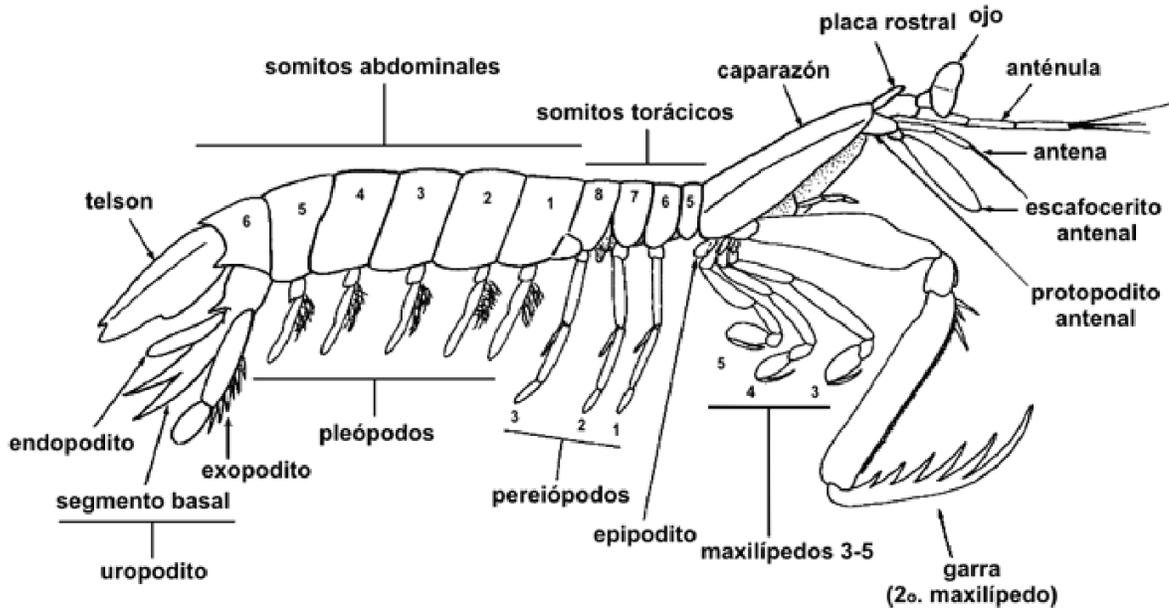


Figura 1. Diseño corporal general de los estomatópodos. Tomado de Salgado Barragán y Hendrickx (2010).

La mayoría de las especies de estomatópodos son bentónicas y se distribuyen principalmente en zonas tropicales y subtropicales, aunque se ha registrado la presencia de algunas especies en zonas templadas (Reaka *et al.*, 2009; Schram *et al.*, 2013; Vetter & Caldwell, 2015). Por lo general, estos organismos se encuentran en ambientes marinos, pero, también es posible hallarlos de manera ocasional en ambientes estuarinos (Manning, 1995; Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010). Los estomatópodos exhiben un amplio ámbito de profundidades en las que pueden habitar, oscilando entre los 0 y 1000 metros (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010).

Por otro lado, se ha determinado que los estomatópodos cumplen un importante rol ecológico en los ecosistemas bentónicos (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010). Constituyen uno de los ítems alimentarios más importante de peces arrecifales como pez león, pargos, peces globos y pulpos (de Vries, 2012; Teschima, Faria-Júnior & Freire, 2012). Al mismo tiempo, estos

crustáceos son estrictamente carnívoros; usan su garra raptorial para arponear o aplastar a sus presas, las cuales comprenden desde moluscos, crustáceos (camarones, cangrejos y otros estomatópodos) hasta peces pequeños (Manning, 1995; Duarte & García, 1999; Marshall, Cronin & Kleinlogel, 2007; Layman & Allgeier, 2012).

Tal y como se mencionó anteriormente, los estomatópodos son morfológicamente distinguibles del resto de los crustáceos (Schram *et al.*, 2013). Poseen un cuerpo aplanado dorso ventralmente, un caparazón corto que no cubre la totalidad del cefalotórax, es decir, la región que comprende desde el quinto hasta el octavo segmento queda descubierta; poseen tres pares de pereiópodos localizados en los somitos torácicos; presentan un abdomen bien desarrollado, donde se encuentran los pleópodos recubiertos por branquias en los primeros cinco segmentos, mientras que el telson se localiza junto a los uropoditos en el último segmento. Cabe resaltar que la característica más distintiva de este grupo es la forma de sus maxilípedos, los cuales presentan una forma subquelada, están ubicados alrededor de la región oral y carecen de exopoditos. Además, de los cinco pares de maxilípedos, el segundo par es el más evidente y especializado, debido a su mayor grado de desarrollo, y tamaño superior en comparación con el resto, por lo cual se conocen comúnmente como apéndices o garras raptorales (Caldwell & Dingle, 1975; Vargas, 2009, Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010; Schram *et al.*, 2013).

Según la morfología de dichos apéndices, los estomatópodos se pueden separar en dos grandes grupos funcionales: los arponeadores y los trituradores. La diferencia principal entre estos radica en la composición morfológica del propodio y el dácilo; si ambos se encuentran recubiertos de pequeños dentículos, se trata del tipo arponeador; de lo contrario, es del tipo triturador, el cual además presenta una protuberancia en la base del dácilo (Salgado-Barragán, Hendrickx & Galvan-Villa, 2013). Otro aspecto a considerar con respecto a estos apéndices, es que existe una relación directa tanto con el tipo de hábitat como con su alimentación. Por ejemplo, las especies arponeadoras, habitan en madrigueras de barro o arena, y por lo general consumen organismos suaves como peces. Por el contrario, las especies trituradoras se alimentan principalmente de organismos con corazas duras tales como, caracoles, cangrejos y camarones; habitan en cavidades rocosas o escombros de coral, donde llevan a cabo la mayoría de sus procesos biológicos, como alimentación, reproducción y crianza de juveniles (Reaka & Manning,

1981; Caldwell, 1985; Hamano & Matsura, 1984; Morgan & Goy 1987; Solano-Barquero, 2011; de Vries, (2012).

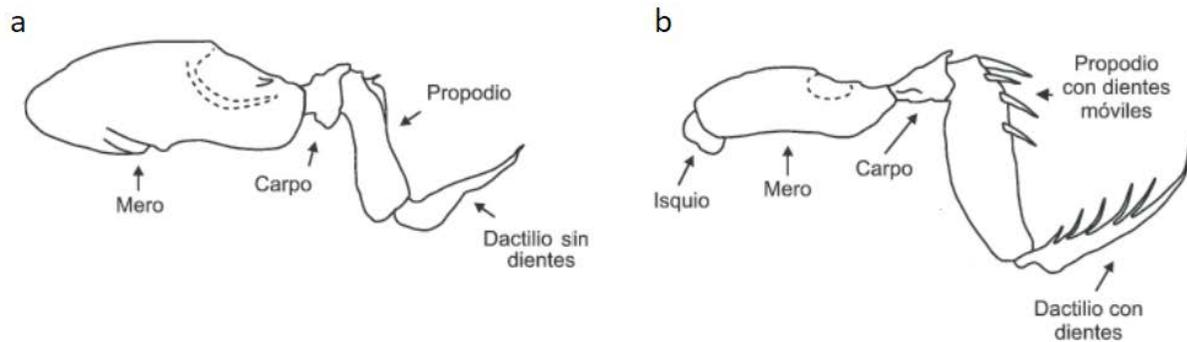


Figura 2. Representación gráfica de las divisiones de los apéndices raptoriales. (a) Corresponde a un apéndice raptorial triturador y (b) a un apéndice arponeador. Tomado y modificado de Arzola-Sotelo y colaboradores (2012).

Basado en la estrategia alimenticia de los estomatópodos, se hace evidente el valor que poseen las cuevas, las cavidades rocosas y los escombros de coral. Estos ambientes representan localizaciones de recursos alimenticios de importancia para estos organismos, lo que conlleva a estos crustáceos a una dinámica de protección de estos hábitats de otros competidores. Esta necesidad por defender su territorio, es lo que ha provocado la evolución de características morfológicas y etológicas que les confiera mayor ventaja y adaptabilidad para cumplir dicho propósito (Caldwell & Dingle, 1975; Vetter & Caldwell, 2015). Entre estas, cabe resaltar el desarrollo de una cutícula y un telson más robustos, adquiriendo este último una función más determinante en la defensa tanto del estomatópodo como de la cueva que tiene como morada. Asimismo, desarrollaron comportamientos agonísticos más agresivos, tales como el acercamiento desafiante, golpes, despliegue de los apéndices raptoriales, agarres y maniobras antenulares (Caldwell & Dingle, 1975; Caldwell, 1979, 1982, 1985). Las especies de la superfamilia Gonodactyloidea, dentro de la cual está incluido el género *Neogonodactylus*, forman parte del grupo funcional triturador y como consecuencia se encuentran asociados a hábitats rocosos y coralinos (Manning, 1995; Barber & Erdmann, 2000).

El género *Neogonodactylus* propuesto por Manning (1995), está compuesto por 22 especies distribuidas a lo largo de todo el continente americano, de las cuales ocho pertenecen al Pacífico Tropical Oriental y 14 al Atlántico Occidental. La separación de estas especies del género *Gonodactylus*, se basa en diferencias morfológicas, entre estas se encuentra la presencia de una carina extra en el telson, una carina accesoria en la cara mesial de la carina intermedia, córneas sub-cilíndricas, escamas oculares angostas, es decir, más altas que anchas y, una placa rostral móvil con una espina media más corta (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010; Salgado-Barragán, Hendrickx & Galván-Villa, 2013).

Como se ha demostrado previamente, ciertas características morfológicas pueden ser de gran utilidad para la descripción e identificación de especies y también, son de gran ayuda para definir poblaciones. Esto se debe a que las diferencias entre las mediciones morfométricas, son un parámetro utilizado en varios estudios, pues, cada población presenta características propias que están ligadas al hábitat (Edwards, 1908; Correa & Bückle, 1993; Belda, Kvist, Monrós, Ponnika & Toralvo, 2009). Adicionalmente, estas características son utilizadas, para la construcción de guías de identificación, al tener la capacidad de resolver problemas taxonómicos. Estas guías de identificación pueden tener diversos grados de complejidad, pues, muchas de ellas cuentan con ilustraciones de las características más relevantes, lo que facilita el proceso de identificación de los organismos. Por ejemplo, Salgado-Barragán y Hendrickx (2010) elaboraron una guía de identificación, ilustrada, de todas las especies de estomatópodos distribuidos en el Pacífico Tropical Oriental. Posteriormente, Salgado-Barragán, Hendrickx y Galván-Villa (2013) también confeccionaron una guía de identificación de estomatópodos del Pacífico Tropical Oriental, pero esta sólo contiene información del género *Neogonodactylus*.

Aunado a lo anterior, las características morfológicas representan una fuente útil de información para estudios filogenéticos, demostrado en las investigaciones de Ahyong (1997) y Ahyong y Harling (2000), quienes elaboran filogenias para comprender de manera más profunda las relaciones evolutivas dentro del orden Stomapoda, utilizando únicamente caracteres morfológicos. Sin embargo, debido a que cada árbol filogenético se elabora con diferentes caracteres morfológicos, se obtienen similitudes e incongruencias entre los árboles obtenidos (Zhang, 2009; Van Der Wal *et al.*, 2018). Como resultado de las discrepancias taxonómicas que

se pueden obtener al elaborar árboles filogenéticos basados en técnicas morfométricas (Bejarano, 2001), surge la necesidad de utilizar técnicas moleculares, las cuales poseen un mayor poder de resolución de conflictos filogenéticos y, además, son concluyentes en la construcción de topologías filogenéticas (Brown *et al.*, 1994; Arndt, Marquez, Lambert & Smith, 1996; Itagaki, Tsutsumi, Ito & Tsutsumi, 1998).

Las técnicas moleculares, están basadas en el estudio del ADN, para esto, requieren el uso de distintos métodos, siendo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) el más utilizado. Este método enzimático tiene como propósito amplificar una porción específica del ADN, mediante la acción de una polimerasa de ADN termoestable (Taq polimerasa) y cebadores (*primers*) de una sola hebra derivados de secuencias pequeñas de ADN (Mattes, 1998). Para lograr esto, se siguen tres pasos: desnaturalización del ADN, alineamiento de los cebadores a la hebra molde y extensión de la cadena de ADN mediante una polimerasa ADN dependiente; esta reacción *in vitro* se comporta de manera cíclica, repitiéndose entre veinte y treinta veces (Paskewitz & Collins, 1990; Bejarano, 2001). Asimismo, la PCR permite el uso de “primers” universales, los cuales habilitan la secuenciación de ADN para especies en las que existen vacíos de información. Lo que a su vez confiere la facilidad de analizar muestras de tejido degradadas, de colecciones de museo, fósiles e individuos pequeños, esto se vuelve posible debido a que sólo requiere de porciones diminutas de material (Simon *et al.*, 1994; Bejarano, 2001). Resulta importante de mencionar que el descubrimiento de este método desencadenó una revolución en la biología molecular, así como el establecimiento de un nuevo paradigma en el modo de pensamiento sistemático, molecular y evolutivo (Simon *et al.*, 1994; Tamay de Dios, Ibarra & Velasquillo, 2013).

Un sitio empleado dentro del genoma animal para análisis de taxonomía molecular es el ADN ribosomal (ADNr), que codifica el ARN ribosomal (ARNr), el cual es un componente estructural de los ribosomas. Según la velocidad de sedimentación, se reconocen tres tipos de ARNr, la subunidad pequeña 18S, la subunidad grande 28S y la subunidad 5.8S; siendo la subunidad 18S y 28S las más utilizadas para desarrollar estudios filogenéticos dentro de la superfamilia Gonodactyloidea (Zhang, 2009), Ambas subunidades ribosomales corresponden a genes conservados, lo cual confiere la capacidad de investigar las relaciones de eventos evolutivos

ocurridos desde hace 400 millones de años hasta eventos más recientes, como consecuencia de su tasa de variación (Hillis & Dixon, 1991; Zhang, 2009).

Las técnicas que utilizan ARN ribosomal como marcador molecular, resultan ser valiosas para los análisis filogenéticos, principalmente porque poseen tres ventajas: 1) Su capacidad conservativa permite el desarrollo de “primers” universales para PCR, tanto en organismos procariotas como eucariotas. 2) Capacidad de emitir señales filogenéticas, lo cual brinda la posibilidad de estudiar las relaciones evolutivas en distintas escalas taxonómicas, desde reino hasta especie. 3) Se pueden obtener cantidades adecuadas de material para la PCR, esto cuando la cantidad de muestra es limitada (Hillis & Dixon, 1991; Zhang, 2009). Mallat, Garey y Shultz (2004) recomiendan utilizar una combinación de la subunidad pequeña y la subunidad grande para una mayor resolución del análisis.

Por otro lado, los genes mitocondriales poseen cierto grado de conservación, incluso cuando el ADN mitocondrial (ADNmt) experimenta un cambio evolutivo más agresivo. Un ejemplo de esto es el Citocromo Oxidasa C subunidad I (COI), el cual es ampliamente utilizado en sistemática molecular para resolver relaciones filogenéticas hasta nivel de familia (Hwang & Kim, 1999; Barber & Erdmann, 2000; Carapelli, Lio, Nardi, Wath & Frati, 2007, Abiwananto *et al.*, 2019). Barber y Erdmann (2000) realizan un análisis filogenético de la familia Gonodactylidae, donde comprueban que este gen permite resolver conflictos taxonómicos de grupos estrechamente relacionados y de esta forma, logran corroborar y respaldar el establecimiento del género *Neogonodactylus*.

### **3. Marco Metodológico**

#### **Área de estudio y muestreo**

**Península de Santa Elena:** Se encuentra aledaño al pueblo de Cuajiniquil, dentro del Área de Conservación Guanacaste. Esta zona presenta acantilados rocosos, playas arenosas, manglares, arrecifes coralinos, islas e islotes. Esta región del país está expuesta a una surgencia o

afloramiento estacional, período durante el cual cambian las condiciones oceanográficas de la zona (Sibaja-Cordero & Cortés 2008; Cortés, Samper-Villareal & Bernecker, 2014; Cortés, 2016, 2017).

Se contó con un stock de especímenes, colectados en el Pacífico Norte de Costa Rica (Anexo 1), provenientes del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR). Además, se realizaron muestreos en diferentes sitios dentro de Bahía Santa Elena y Bahía Thomas (Figura 3), bajo el marco del proyecto BioMar-ACG y del Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR) de la UCR. Es importante destacar que ambos sitios se encuentran dentro de distintas categorías de manejo ya que, el Área Marina de Manejo Bahía Santa Elena pertenece en su totalidad al Área de Conservación Guanacaste, lo cual se debe a que la línea costera de este sitio pertenece al Sector Murciélagos, por lo que cuenta con cierto grado de protección del ecosistema; mientras que Bahía Tomás posee un ligero grado de protección ya que solo una pequeña proporción pertenece al Sector Murciélagos, sin embargo, predomina la línea costera no protegida (Figura 3).

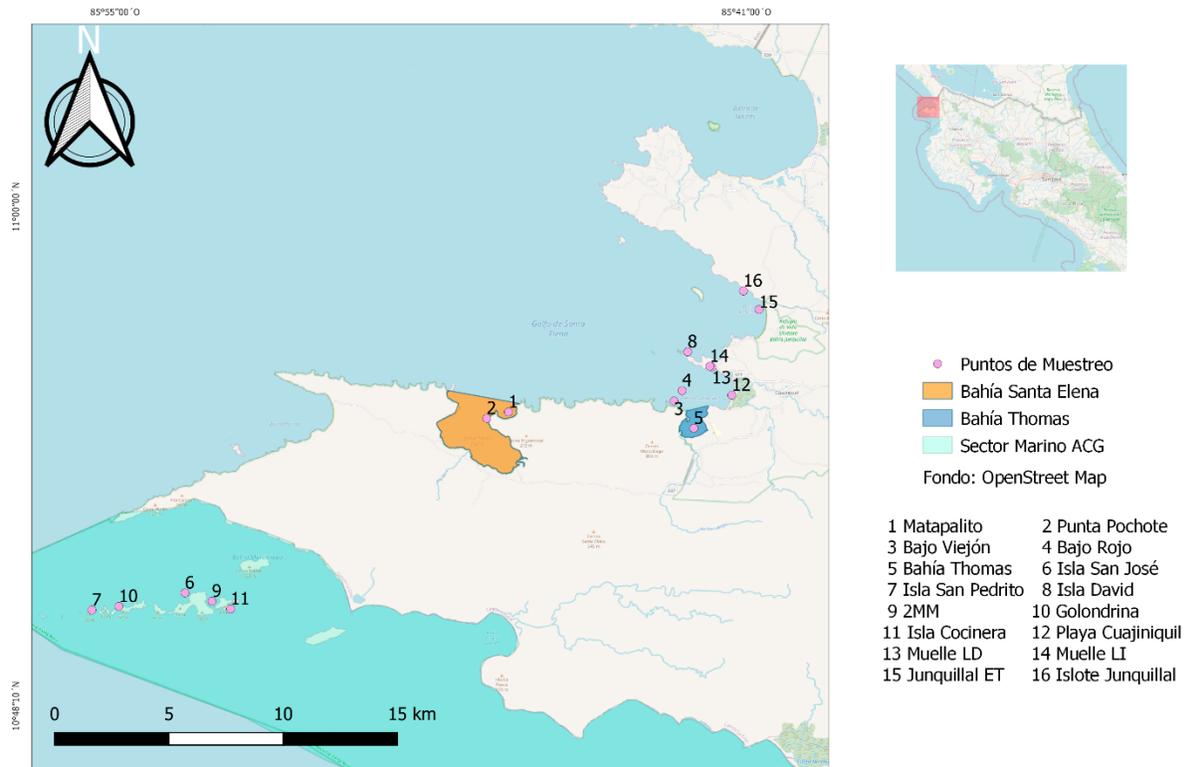


Figura 3. Sitios de muestreo de los especímenes utilizados en este estudio, incluyendo las muestras provenientes del Museo de Zoología y las giras de campo realizadas.

En cada sitio de muestreo, se sustrajo de manera aleatoria entre 15-20 rocas porosas, con un tamaño aproximado de 20 x 20 cm. Se extrajeron todos los especímenes pertenecientes al género *Neogonodactylus*, se fotografiaron para mantener un registro de la coloración, se preservaron en alcohol al 70% y se llevaron al Museo de Zoología de la UCR. Los especímenes colectados, en conjunto con los especímenes depositados en la colección del museo, fueron identificados taxonómicamente con ayuda de un estereoscopio y las claves de identificación de Salgado-Barragán y Hendrickx (2010, 2013). Además, tomando en cuenta los datos de abundancia de los especímenes, se realizó un gráfico de dispersión (Microsoft Excel 2019, 16.13029.20342) según el año de colecta.

### Análisis morfométrico

Para las mediciones morfométricas se utilizaron los estomatópodos recolectados y los especímenes del Museo de Zoología de la UCR como un parámetro de apoyo en la identificación. Para esto, se tomaron fotografías con un estereoscopio digital, principalmente del telson y del rostro de cada estomatópodo. Las mediciones biométricas se realizaron con el programa “Fiji” (Schindelin et al., 2012). A cada estomatópodo se le midió: longitud total del telson (LT), longitud del telson 1 (LT1), longitud del telson 2 (LT2), longitud de carina media (LC1), longitud de carina sub-media anterior (LC2), longitud de carina sub-media (LC3), longitud de carina intermedia (LC4), longitud de carina intermedia accesoria (LC4a), ancho del telson (AT), ancho terminal entre carinas submedias (AEC), longitud de la placa del rostro (LPR), ancho de la placa del rostro (APR) y ancho de la base de la placa del rostro (ABPR) (Figuras 4 y 5). Cada una de estas mediciones fue transformada a proporciones, tomando como base LT para las mediciones de telson y LPR para las mediciones del rostro. Además, estos datos fueron utilizados para un análisis de componentes principales con el programa R versión 3.5.0 (R Core Team, 2020), con el propósito de discriminar entre especies basándose en estas mediciones biométricas. Cabe resaltar que *N. stanschi* no se tomó en cuenta para este análisis, ya que solo se contaba con dos especímenes del Museo de Zoología.

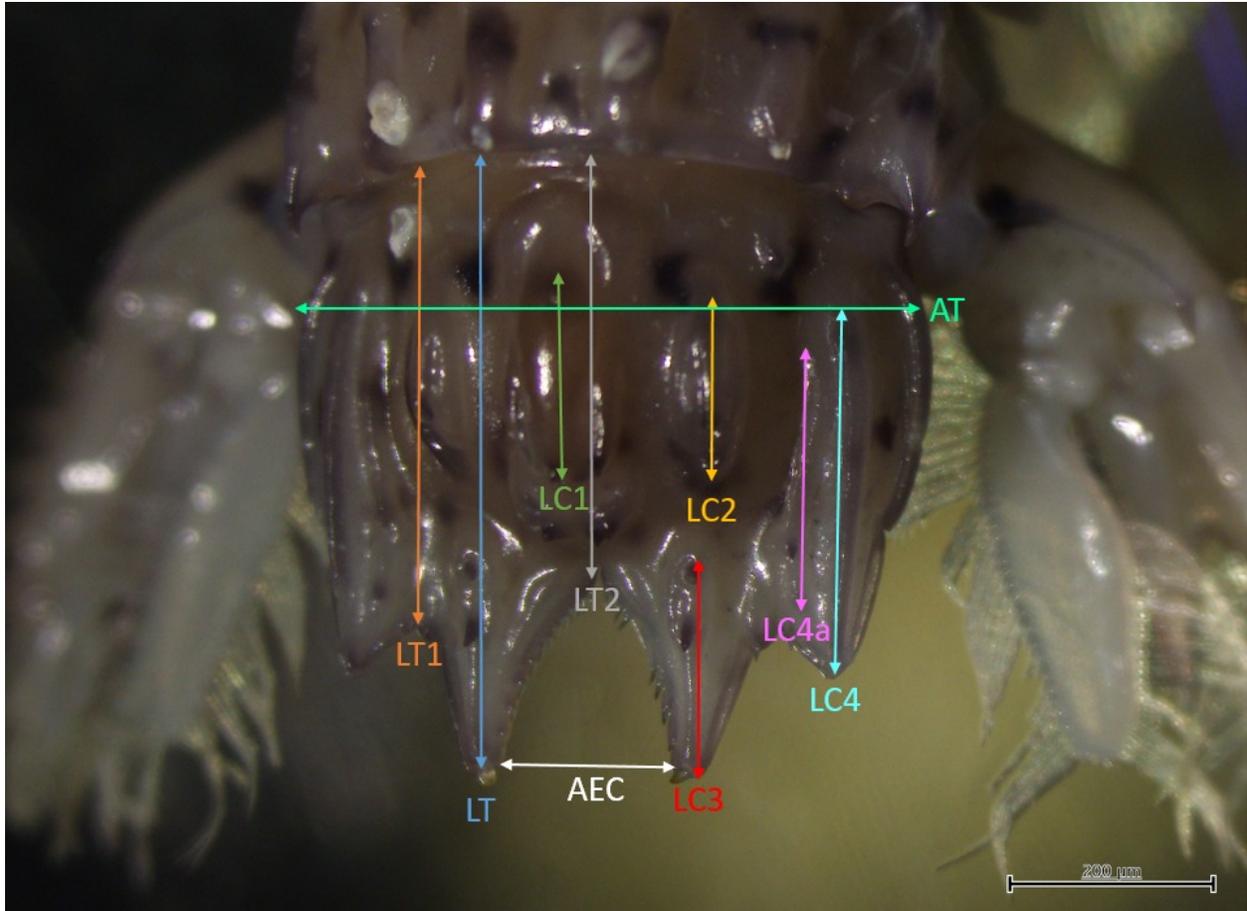


Figura 4. Imagen ilustrativa de cómo se realizó cada una de las mediciones del telson. LT: longitud total del telson; LT1: longitud del telson 1; LT2: longitud del telson 2; LC1: longitud de carina media; LC2: longitud de carina sub-media anterior; LC3: longitud de carina sub-media; LC4: longitud de carina intermedia; LC4a: longitud de carina intermedia accesoria; AT: ancho del telson; AEC: ancho terminal entre carinas submedias.

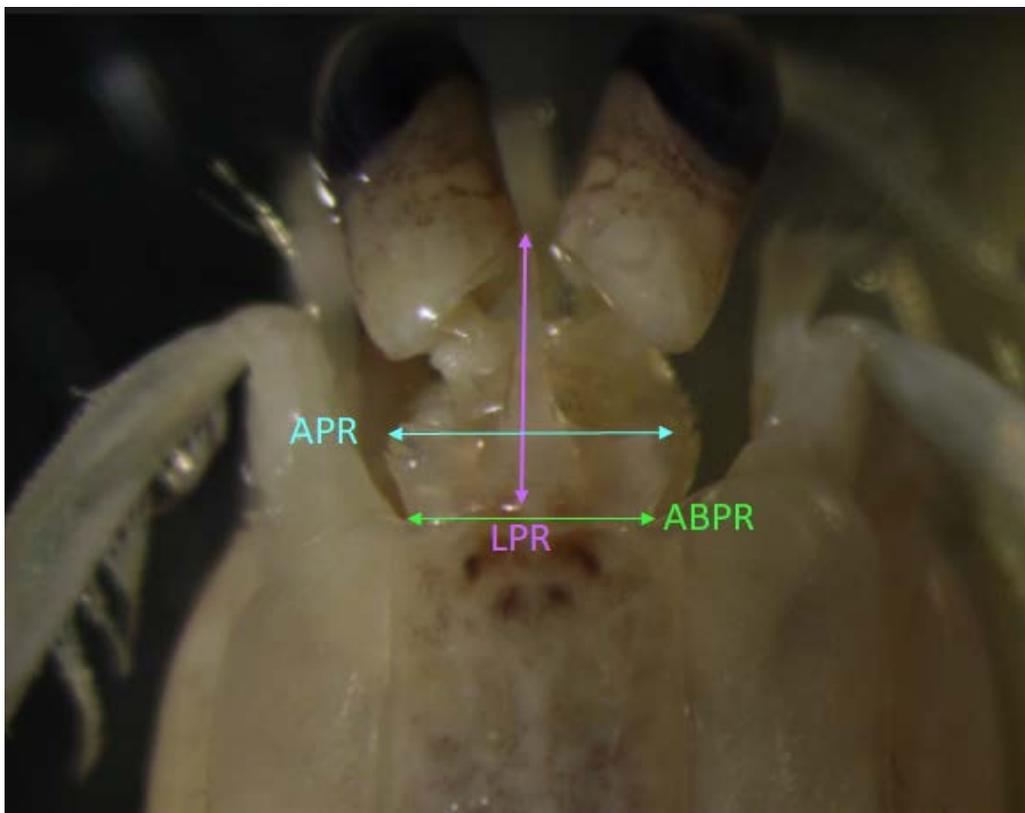


Figura 5. Imagen ilustrativa de cómo se realizó cada una de las mediciones del rostro. LPR: longitud de la placa del rostro; APR: ancho de la placa del rostro; ABPR: ancho de la base de la placa del rostro.

### Análisis moleculares

Los análisis moleculares se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis Genómico de la Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Costa Rica (UNA). Se utilizaron especímenes del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR) y especímenes colectados en el Pacífico Norte. Para esto, se removieron dos pares de pereiópodos de cada individuo. El ADN total fue extraído por medio del kit de extracción PureLink (Invitrogen), siguiendo el protocolo del fabricante. Se usó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar un fragmento del gen mitocondrial citocromo oxidasa 1 (COI) y un fragmento del gen nuclear 28S. Para COI se utilizaron los *primers* HCO-2193 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAARAAYCA-3') y LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCA

TAAAGAYATYGG-3') diseñados por Folmer, Black, Hoeh, Lutz y Vrijenhoek (1994) y para 28S se usaron 1F (5'-GACCCAGCGCGGAACCTCGCGC-3') y 1R (5'-CGCCTTTGGTAGTGCGCC-3') diseñados por Zhang (2009), respectivamente.

Además, para cada reacción PCR se utilizaron 2  $\mu$ L de ADN (12ng/L), Buffer 10X de la Taq polimerasa (2.5  $\mu$ L), dNTPs (2uM de cada uno), cebadores sentido y antisentido (10 uM) y agua destilada doble desionizada estéril (libre de nucleasas); esto según la receta de reacción enzimática realizada por Zhang (2009). La solución resultante se amplificó en un termociclador Proflex (Applied Biosystems™); el ciclo térmico estuvo compuesto de una desnaturalización inicial de dos minutos a 94°C, 35 a 40 ciclos de reacción PCR, y una extensión final de 10 minutos a 72°C. Las condiciones del ciclo de PCR fueron: un minuto de desnaturalización a 95°C, un minuto de alineamiento de 55°C o 63°C para COI y 28S, respectivamente. Como paso final, un minuto de extensión a 72°C, según lo estipulado por Zhang (2009). Los productos PCR fueron purificados mediante precipitación con acetato de sodio 3M y etanol; posterior a esto, la cantidad de ácidos nucleicos fue cuantificada con un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™) y utilizados para secuenciación directa mediante el secuenciador de multicapilares (Modelo 3130, Applied Biosystems).

Las secuencias obtenidas se editaron en el programa Geneious versión R9 (Biomatters) por medio de edición manual. Para reconocer preliminarmente su identidad taxonómica a nivel de género, las secuencias fueron evaluadas en el programa en línea BLASTn (Altschul et al. 1990), mediante parámetros por defecto y disponible en National Center for Biotechnology Information (NCBI, Bethesda, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) y finalmente depositadas en el GenBank mediante el sistema de acceso BankIt (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/WebSub/>). Posteriormente, se realizó un alineamiento múltiple de secuencias utilizando el programa MAFFT v7.308 (Kato & Standley, 2013) aplicando el método iterativo de refinamiento G-INS-i (1PAM/k= 2), seguido de una selección de bloques conservados mediante parámetros menos estrictos empleando el programa Gblocks (Castresana, 2000). La determinación del modelo de sustitución nucleotídica se realizó mediante el programa ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) arrojando que el mejor modelo fue el de transición AC=AT, AG =CT, CG=GT, con asignación de frecuencia de bases empírica y sitios invariables (TPM2+F+I), el modelo anterior

fue el que mejor se ajustó para el árbol de 28s tomando en cuenta 719 posiciones informativas (pares de bases); mientras que, para el árbol filogenético del gen COI, el mejor modelo de ajuste fue el TPM2+F+G4 con 658 posiciones informativas. Seguidamente, se utilizó la plataforma en línea IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at>) (Nguyen et al., 2015; Trifinopoulos et al., 2016) para inferir topologías de posicionamiento filogenético por máxima verosimilitud empleando un algoritmo estocástico. Los parámetros empleados para la inferencia filogenética fueron el uso de heterogeneidad de tasa libre, cálculo de soporte de los nodos derivado del método bootstrap UFboot de 5000 permutaciones (Minh et al., 2013), con un máximo de 5000 iteraciones y un test de rama única (SH-aLRT) con 5000 réplicas. Finalmente, los árboles obtenidos se visualizaron y editaron con el programa FigTree v1.4 (Rambaut 2009).

### **Análisis ecológico**

Para el análisis ecológico descriptivo, se calcularon índices de diversidad alfa y beta, con el propósito de determinar la diversidad de un hábitat particular y la variación de diversidad entre cada una de las bahías (Figura 1). El índice de diversidad alfa que se utilizará para determinar la diversidad específica de una zona es Shannon-Wiener ( $H'$ ), el cual se calcula mediante la fórmula:

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

donde  $p_i$  equivale a la abundancia relativa de la especie “i”.

Adicionalmente, basado en el valor obtenido de  $H'$ , se calculó  $H'$  máx. (máxima diversidad que puede alcanzar una comunidad evaluada, bajo la suposición que todas las especies observadas se encuentren en la misma proporción), el cual es equivalente a  $\ln S$  (riqueza). Posterior a esto, se determinó el índice de equitatividad de Pielou ( $J$ ), ya que representa la distribución de la abundancia de las especies observadas y se calculó de la siguiente manera:  $H'/H'$  máx. (Magurran, 1988).

En adición, se calculó el índice de Simpson ( $\lambda$ ), que se utiliza para estimar el valor de dominancia que presenta una especie sobre las demás, es decir, la probabilidad de obtener un

individuo de la misma especie en la zona de muestreo de manera consecutiva, para calcularlo se hace uso de la fórmula:  $\lambda = \sum p_i^2$

## 4. Resultados

### Análisis morfológico

Se utilizaron fotografías de cinco estomatópodos provenientes del Pacífico Norte y 87 del museo, para identificarlas morfológicamente a través de características diagnósticas y mediciones morfométricas (Cuadro 1; Anexo 1; Figura 6). Se identificaron tres especies del género *Neogonodactylus* en las muestras provenientes del Pacífico Norte (*N. bahiahondensis*, *N. costaricensis* y *N. zacaе*); mientras que, en la colección del museo, se identificaron cinco especies: *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae*, *N. stanschi* y *N. zacaе* (Figura 7), las cuales también provenían del Pacífico Norte. Cabe resaltar que, se observaron varios individuos identificados como *N. costaricensis* que poseían características de *N. bahiahondensis*, por lo que se creó una categoría llamada “*N. costaricensis-N. bahiahondensis*” en la que se discuten los resultados morfológicos y genéticos más adelante.

Cuadro 1. Lista de especímenes utilizados durante los análisis morfológicos, incluyendo la cantidad de especímenes (n) por localidad o lugar de colecta. *N. b.* = *N. bahiahondensis*; *N. c.-N. b.* = *N. costaricensis-N. bahiahondensis*; *N. c.* = *N. costaricensis*; *N. s.* = *N. stanschi*; *N. f.* = *N. festae*; *N. z.* = *N. zacaе*.

Localidad	<i>N. b.</i>	<i>N. c.- N. b.</i>	<i>N. c.</i>	<i>N. s.</i>	<i>N. f.</i>	<i>N. z.</i>	n/localidad
2 MM	0	0	0	0	0	1	1
Bajo Rojo	2	0	0	0	0	7 <sup>1</sup>	9
Bajo Coco	1	0	0	0	0	0	1
Matapalito*	1 <sup>1</sup>	0	1 <sup>1</sup>	0	0	0	2
Isla David	0	1	2	0	0	1	4
Golondrina	0	0	0	0	0	1	1
Bajo	0	0	0	1	0	2	3

Viejón							
Bahía Thomas	6	0	6	0	2	0	<b>14</b>
Isla San José	3	1	3	0	0	4	<b>11</b>
Isla Cocinera	0	1	1	0	0	2	<b>4</b>
Punta Pochote	0	2	1	0	0	0	<b>3</b>
Islote Junquillal	1	1	3	0	6	0	<b>11</b>
Playa Cuajiniquil	0	0	2	0	8	0	<b>10</b>
Muelle lado derecho	0	1	1	0	0	0	<b>2</b>
NE Isla San Pedrito	0	0	3	0	0	3	<b>6</b>
Muelle lado izquierdo	0	0	0	0	1	0	<b>1</b>
La Gemela*	0	0	0	1	0	1	<b>2</b>
Junquillal esquina tamarindo	0	0	2	0	5	0	<b>7</b>
<b>n/especie</b>	<b>14</b>	<b>7</b>	<b>25</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	

\*Sitios ubicados dentro del Sector Marino de Área de Conservación Guanacaste, Bahía Santa Elena. La mayoría de especímenes provenían de la colección del Museo de Zoología, pero el “1” como subíndice en algunos números, significa que, de la cantidad total de especímenes, uno de ellos fue colectado durante las giras de campo.

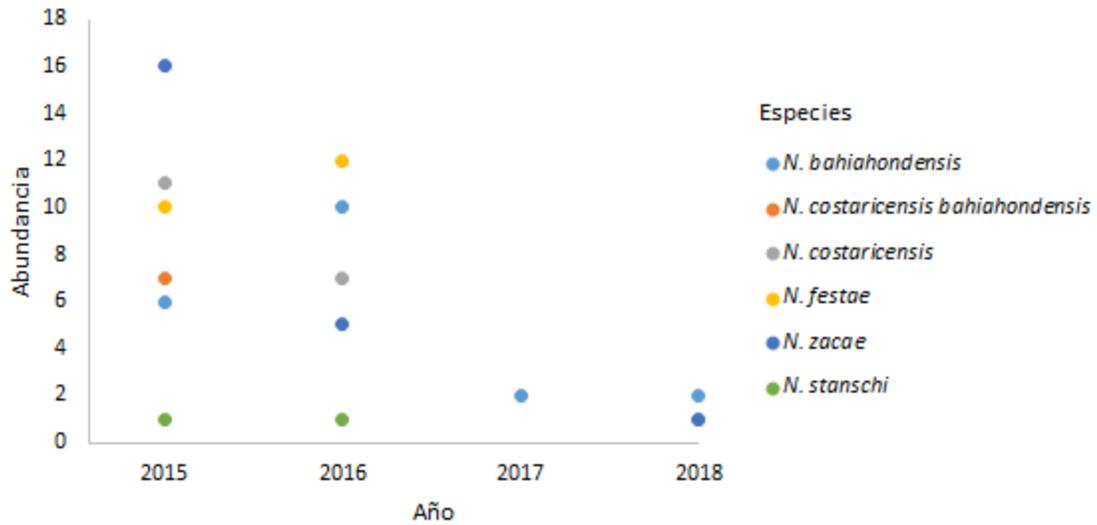


Figura 6. Abundancia por año de colecta de las especies de *Neogonodactylus* spp. analizadas en este estudio.

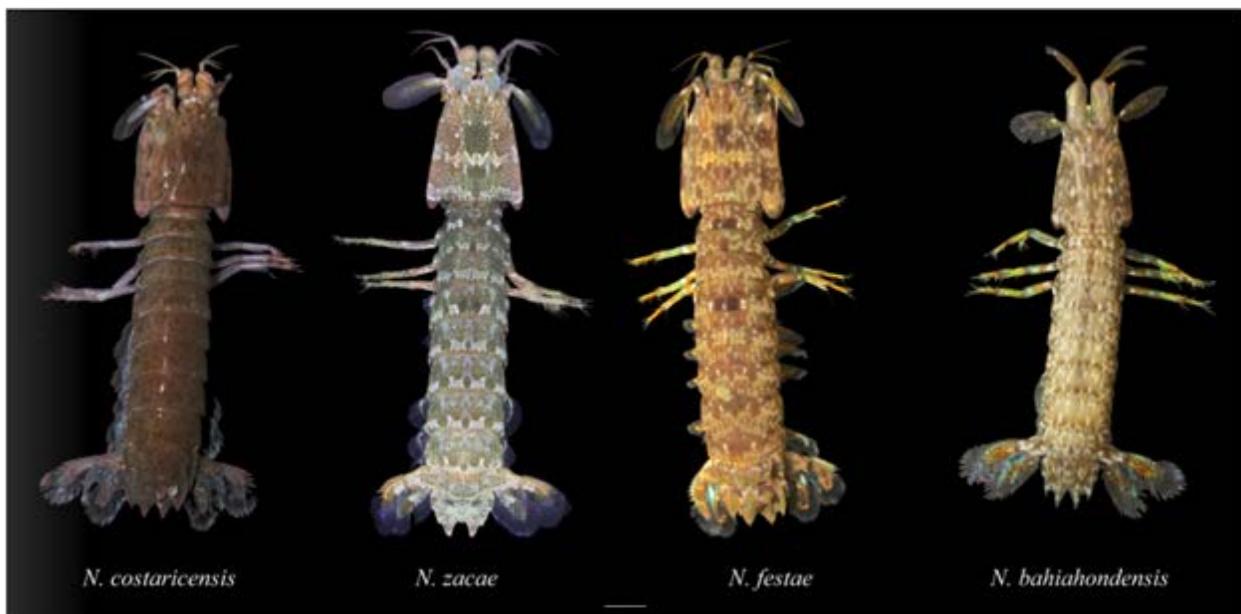


Figura 7. Fotografías de las especies de *Neogonodactylus* spp. identificadas en el Pacífico Norte de Costa Rica. Escala = 0.5 cm

Debido a que las especies del género *Neogonodactylus* son muy similares entre sí, el tamaño y los componentes del telson, así como la placa del rostro resultan claves para su identificación (Cuadro 2). Por ejemplo, *N. zacaе* se distingue del resto de especies del Pacífico al presentar un

telson sin espinas (Figura 8c); *N. stanschi* es la única especie con espinas en la carina accesoria intermedia del telson; *N. festae* tiene la carina media y la carina media accesoria fusionadas formando un ancla y, además, tiene un dentículo debajo del lóbulo del diente lateral, no así en *N. costaricensis* y *N. bahiahondensis*. La especie *N. costaricensis*, se diferencia al presentar escamas oculares anchas, en forma cuadrada o sub-rectangular; un ángulo anterolateral del rostro muy agudo (no espiniforme) y por lo general, manchas anteriores dorsales en el telson. Por último, *N. bahiahondensis* se puede distinguir del resto de las especies ya que posee escamas oculares redondeadas, un ángulo anterolateral del rostro espiniforme y un telson sin manchas anteriores. Finalmente, al comparar *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*, se determina que una de las principales características para distinguir entre ambas especies es la presencia de espinas en la quilla del telson, con 2 y 4 respectivamente (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010).

Cuadro 2. Comparación entre las características diagnósticas de cada especie. “+”: si la presenta; “-”: no la presenta. *N. b.* = *N. bahiahondensis*; *N. c.* = *N. costaricensis*; *N. s.* = *N. stanschi*; *N. f.* = *N. festae*; *N. z.* = *N. zacae*.

<b>Características</b>	<b><i>N. b.</i></b>	<b><i>N. c.</i></b>	<b><i>N. f.</i></b>	<b><i>N. s.</i></b>	<b><i>N. z.</i></b>
Escamas oculares anchas	-	+	-	-	-
Fusión de carinas medias	-	-	+	-	-
Espinas en la quilla del telson	2	4	-	-	-
Escamas oculares redondeadas	+	-	-	-	-
Ausencia de espinas en el telson	-	-	-	-	+
Ángulo anterolateral del rostro agudo	-	+	-	-	-
Espinas en carina accesoria intermedia	-	+	-	+	-
Ángulo anterolateral del rostro espiniforme	+	-	-	-	-
Presencia dentículo debajo del lóbulo lateral	-	-	+	-	-

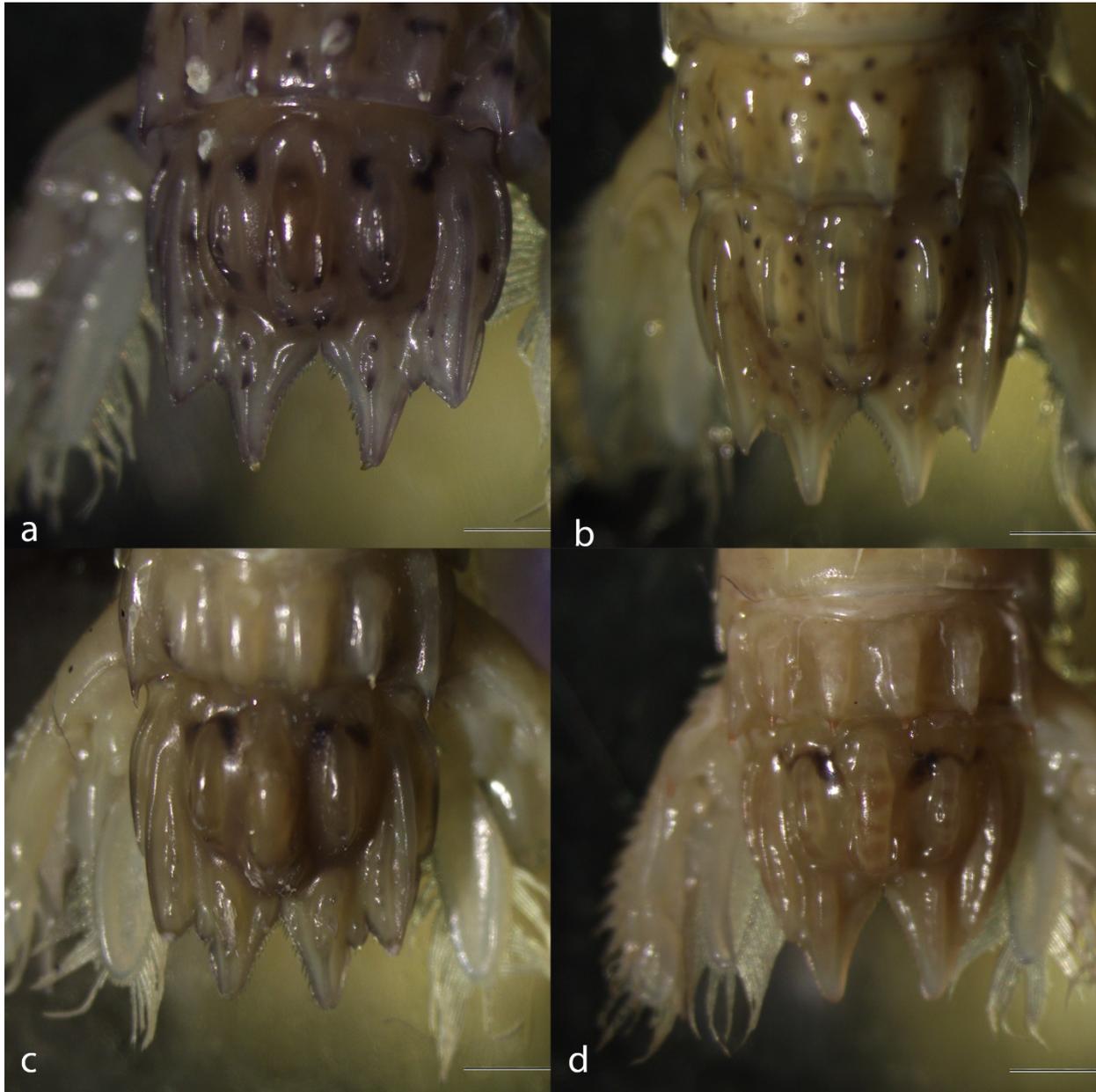


Figura 8. Fotografía del telson de diferentes especies de *Neogonodactylus*: a) *N. costaricensis*; b) *N. bahiahondensis*; c) *N. festae* y d) *N. zacae*. Escala = 0,2cm.

A pesar de esto, algunos especímenes presentaron características que no eran propias de la especie. Como muestra de esto, se observaron especímenes de *N. zacae* con manchas en el telson, específicamente en la región comprendida entre la base de la carina media y la carina

media propiamente. Además, en todas las especies del género incluidas en este estudio, se observó que pueden presentar o no diferentes patrones de manchas, siendo los pequeños puntos a lo largo de todo el cuerpo y las manchas en el telson, los más comunes. En algunos individuos de diferentes tamaños, de *N. festae* y *N. zacae*, se observó un patrón específico de tres manchas entre el cefalotórax y los primeros dos somitos torácicos. Los especímenes catalogados como “*N. costaricensis-N. bahiahondensis*”, tenían tan solo dos espinas en la protuberancia media posterior de su telson. Por último, es importante mencionar que se encontraron diferencias en coloración entre miembros de la misma especie, principalmente en *N. bahiahondensis* y *N. festae*.

Para el análisis de componentes principales (Cuadro 3), se incluyeron en total 90 especímenes (Cuadro 1, menos *N. stanschi*). Se mostró que el 85.25% de la variación estuvo explicada en los componentes 1, 2, 3 y 4 (45.84%, 19.26%, 13.21% y 6.94% respectivamente). Las variables más importantes que contribuyeron en el componente principal 1 y 2 fueron la longitud de la carina sub-media (%LC4), ancho terminal entre carinas submedias. (%AE), longitud de carina intermedia accesoria (%LC4a), ancho de la base de la placa del rostro (%ABPR), ancho de la placa del rostro (%APR) y longitud de carina sub-media (%LC3) (Figura 9); esto quiere decir que fueron las variables más importantes que nos permiten distinguir 5 grupos o especies: *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae*, *N. zacae* y *N. costaricensis-N. bahiahondensis*. Se pensó que este análisis ayudaría a resolver el conflicto taxonómico con *N. costaricensis-N. bahiahondensis*. Sin embargo, tal y como se muestra en la Figura 10, esta especie traslapa tanto con *N. costaricensis* como con *N. bahiahondensis*. Lo anterior se debe a que se observaron 7 individuos clasificados como *N. costaricensis*, que presentan características morfológicas diagnósticas de *N. bahiahondensis*, lo cual generó dudas respecto a su clasificación. (Figura 10).

Cuadro 3. Mediciones utilizadas para el análisis de componentes principales. Se muestra el rango (proporciones) de cada una de las mediciones por especie y la desviación estándar representado por el símbolo de sigma,  $\sigma$ .

	<i>N. bahiahondensis</i>		<i>N. costaricensis - N. bahiahondensis</i>		<i>N. costaricensis</i>		<i>N. festae</i>		<i>N. zacaе</i>	
	Ámbito (%)	$\sigma$	Ámbito (%)	$\sigma$	Ámbito (%)	$\sigma$	Ámbito (%)	$\sigma$	Ámbito (%)	$\sigma$
<b>LT1</b>	74.05 - 78.86	1.2109	74.05 - 76.82	0.9223	74.79 - 79.23	1.46	77.10 - 81.09	1.0433	74.87 - 79.94	1.435
<b>LT2</b>	67.29 - 71.02	1.0876	85.29 - 89.54	1.465	64.10 - 69.00	1.194	69.35 - 72.82	1.2061	54.66 - 59.95	1.7274
<b>LC1</b>	44.01 - 46.91	1.0769	44.66 - 46.74	0.8601	44.08 - 47.92	1.077	43.26 - 47.88	1.3556	46.08 - 49.74	1.0209
<b>LC2</b>	29.82 - 32.59	0.9285	31.30 - 36.50	1.7787	35.16 - 38.76	1.14	33.00 - 35.60	0.9565	35.40 - 39.82	1.1522
<b>LC3</b>	34.12 - 34.44	1.7756	35.01 - 37.32	0.8847	30.03 - 47.410	3.363	35.12 - 39.08	1.0178	42.29 - 46.67	1.2098
<b>LC4</b>	62.24 - 65.82	0.9858	67.04 - 70.93	1.2489	62.5 - 69.28	1.338	65.16 - 69.27	1.2652	54.15 - 57.77	1.1919
<b>LC4a</b>	29.21 - 33.62	1.5859	29.27 - 32.59	1.1484	28.18 - 38.78	2.139	27.20 - 30.74	1.0517	22.57 - 25.84	0.9179
<b>AT</b>	112.04 - 115.82	1.1253	125.76 - 134.32	2.7682	113.05 - 116.67	0.957	114.16 - 119.31	1.3935	120.20 - 124.87	1.2654
<b>AEC</b>	28.22 - 31.00	0.8149	29.39 - 31.62	0.8401	27.08 - 34.00	1.39	26.02 - 32.58	1.6893	21.12 - 24.73	0.9159
<b>APR</b>	105.14 - 108.84	1.262	104.64 - 108.91	1.6048	103.17 - 106.93	1.283	101.66 - 114.84	2.6327	98.47 - 116.67	3.1188
<b>ABPR</b>	78.02 - 83.71	1.6039	75.27 - 79.34	1.5222	75.33 - 82.54	1.808	66.03 - 69.96	1.1443	72.02 - 75.77	1.1502

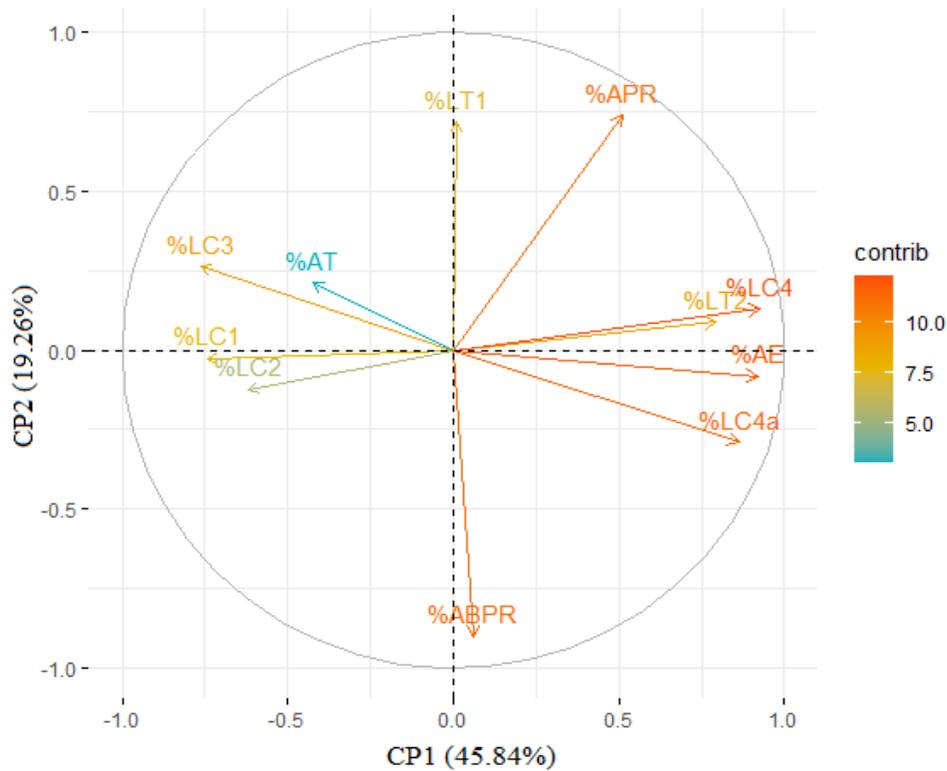


Figura 9. Representación gráfica de la contribución aportada por cada una de las variables. Se evidencia que APR, LC4, AE, LC4a y ABPR son las proporciones con mayor aporte para distinguir entre especies; mientras que AT es el que menor aporta.

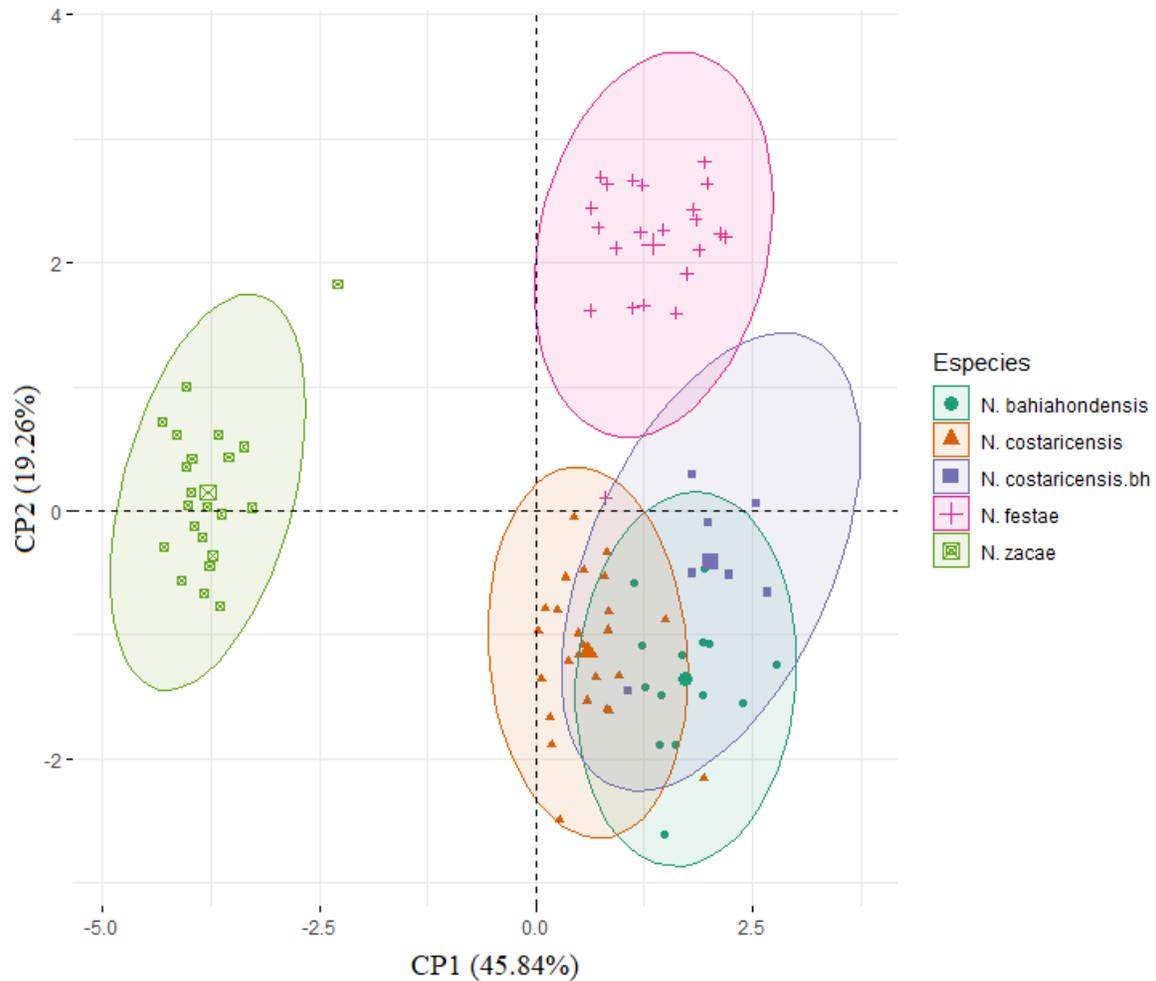


Figura 10. Representación gráfica de la dispersión de datos según el componente principal 1 y 2. Separación de datos en cinco grupos, tales como: *N. habiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. costaricensis-N. habiahondensis*, *N. festae* y *N. zacae*. Se observa una clara separación de *N. zacae* y *N. festae*, contrario a los otros tres grupos, los cuales traslapan entre sí.

### Análisis moleculares

Los análisis filogenéticos incluyeron un total de 16 secuencias mitocondriales para el gen COI y 14 secuencias para el gen 28S (Cuadro 4), con una longitud de 675 pb y 719 pb, respectivamente. Con dichas secuencias se generó un árbol de posicionamiento taxonómico de cada una de los genes para las especies del Pacífico costarricense del género *Neogonodactylus*; se utilizó una especie de la familia Squillidae: *Squilla rugosa*, como grupo externo, se añadieron

dos especies de la familia Gonodactylidae: *Gonodactylus chiragra* y *Gonodactylellus viridis* para enriquecer la comparación taxonómica (Figura 11).

Cuadro 4. Muestras utilizadas para el análisis molecular, voucher de accesoión del Museo de Zoología de la UCR, localización de la colecta de muestras y números de accesiones Genbank de secuencias nucleotídicas utilizadas para la elaboración del árbol concatenado de posicionamiento taxonómico de estomatópodos de la familia Gonodactylidae.

Especie	Código de aislamiento local	Voucher	Localización de la colecta (Guanacaste)	Números de accesoión GenBank COI	28S
<i>Squilla rugosa</i>	/	/	/	HM138810.1	HM180042.1
<i>NcostaricensisBH1(C.R)</i>	LAGEN 51	MZ_UCR-15-00051	Isla Cocinera, Islas Murciélago	sd	/
<i>NcostaricensisBH3(C.R)</i>	LAGEN 1712	MZ_UCR-16-01712	Bahía Thomas, Península de Santa Elena	sd	sd
<i>NcostaricensisBH4(C.R)</i>	LAGEN 771	MZ_UCR-15-00771	Isla San José, Islas Murciélago	/	sd
<i>Nbahiahondensis1(C.R)</i>	LAGEN 588	MZ_UCR-15-00588	Bahía Thomas, Península de Santa Elena	sd	sd
<i>Nbahiahondensis4(C.R)</i>	LAGEN 1135	MZ_UCR-16-01135	Punta Pochote, Islas Murciélago	/	sd
<i>Nzacae1(C.R)</i>	LAGEN 2020	MZ_UCR-16-02020	Bajo Rojo, Golfo de Santa Elena	sd	/
<i>Nzacae4(C.R)</i>	LAGEN 2021	MZ_UCR-16-02021	Bajo Rojo, Golfo de Santa Elena	sd	/
<i>Nstanschi(C.R)</i>	LAGEN 918	MZ_UCR-15-00918	Matapalito, Península de Santa Elena	sd	sd
<i>Nfestae1(C.R)</i>	LAGEN 1067	MZ_UCR-15-01067	Playa Cuajiniquil, La Cruz	/	sd
<i>Nfestae4(C.R)</i>	LAGEN 1641	MZ_UCR-16-01641	Junquillal, La Cruz	sd	/
<i>Ncostaricensis1(C.R)</i>	LAGEN 1884	MZ_UCR-16-01884	Muelle, La Cruz	sd	sd
<i>Ncostaricensis3 (C.3)</i>	LAGEN 1333	MZ_UCR-16-1333	Matapalito, Península de Santa Elena	Sd	/
<i>Gonodactylellus viridis</i>	/	/	/	KT001549.1	AF205224.1
<i>Gonodactylus chiragra</i>	/	/	/	HM180014.1	AF205250.1
<i>Neogonodactylus bahiahondensis1</i>	/	/	/	HM180024.1	HM138794.1
<i>Neogonodactylus bredini</i>	/	/	/	HM180025.1	KP254652.1
<i>Neogonodactylus oerstedii2</i>	/	/	/	MF490098	KF453111
<i>Neogonodactylus wenneerae</i>	/	/	/	KT001550.1	KT001541.1

Donde “sd” significa muestras sin número de accesoión a Genbank y “/”, muestras sin información.

Se observaron, de manera general, dos agrupaciones de especies definidas en los árboles de posicionamiento taxonómico de los genes 28s (Figura 11) y COI (Figura 12) respectivamente, correspondiendo al grupo de especies del Pacífico (*N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*, *N. festae* y *N. stanschi*) y al grupo de las especies del Caribe (*N. bredini*, *N. oerstedii* y *N. wenniferae*) tomadas de Genbank para este estudio. La diferenciación de los grupos es más evidente en el árbol del gen COI (Figura 12), a diferencia con el árbol de 28s, en este último se observa a *N. wenniferae*, como especie hermana del clado compuesto por las especies de *N. costaricensis* y *N. festae*. Con respecto al árbol del gen COI, la especie *N. stanschi* se encuentra posicionada como la especie hermana del clado que contiene a las demás especies del pacífico. De igual manera, *N. costaricensis* se encuentra como especie hermana del clado compuesto por *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis*. Se puede observar que, en ambos árboles, lo que se cree que potencialmente podría ser una “especie” no descrita, “*N. costaricensis*-*N. bahiahondensis*”, se posiciona dentro de clados definidos a los cuales no pertenecen las especies *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*. Añadido a lo anterior, es interesante resaltar la posición de *Neogonodactylus bahiahondensis1* en ambos árboles, debido a que corresponde a la especie *N. bahiahondensis*, tomada de Genbank. En la construcción con COI, su posición es más acorde que en la construcción con 28s, en la primera, se encuentra como especie hermana de las muestras de Costa Rica, a saber, *Nbahiahondensis1\_C.R\_* y *Nbahiahondensis4\_C.R\_*, en la segunda se encuentra posicionada como especie hermana del clado compuesto por *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis* y *N. stanschi*. Finalmente, en la construcción del gen 28s (Figura 11), está clara la posición de *N. zacaе* en un clado definido, no así en la construcción de COI (Figura 12). Cabe destacar que se observaron ciertas irregularidades en cuanto al posicionamiento de algunas especies, por ejemplo, la posición de *N. festae*, no está definida en ninguno de los árboles, en el de 28s (Figura 11) forma un clado con *N. costaricensis*, en la construcción de COI, se encuentra en un clado con *N. zacaе*.

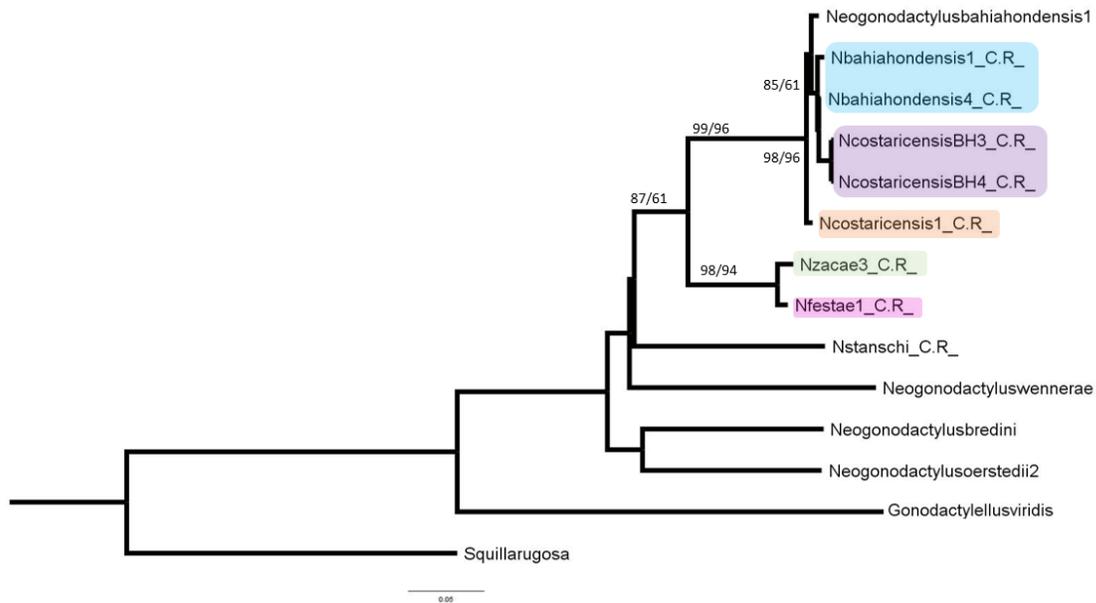


Figura 11. Árbol del posicionamiento taxonómico de las especies de *Neogonodactylus*, para el gen 28s, con soporte de máxima verosimilitud, los valores de soporte de cada rama se muestran como SHaLRT (Test de rama única) / UFBoot (bootstrap ultra rápido), en el cual la confianza en un clado se interpreta como >80 y >90, respectivamente. Valores de soporte de las ramas menores al 80% no se muestran en la topología.

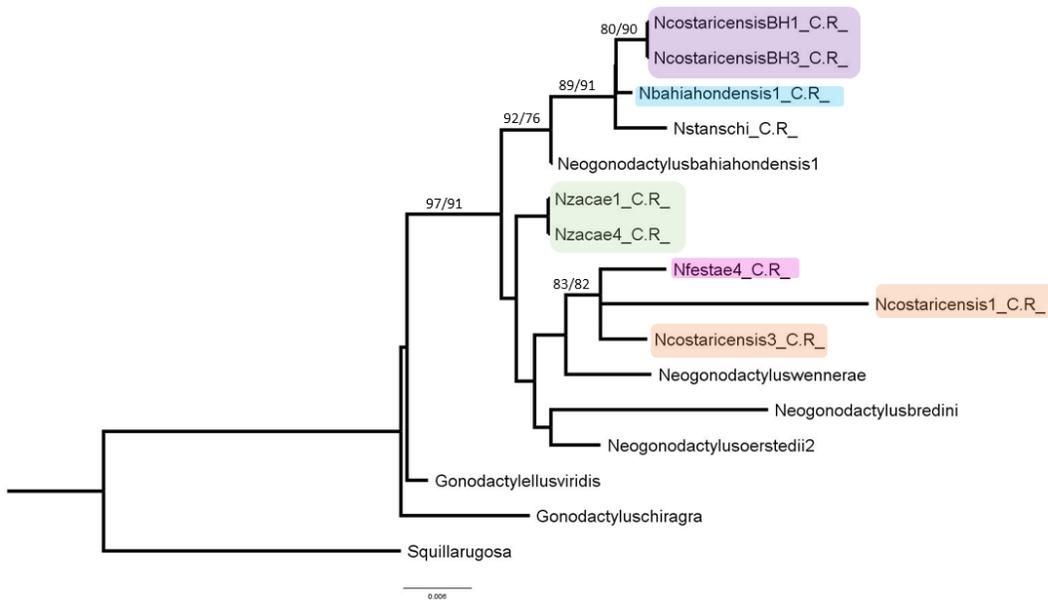


Figura 12. Árbol del posicionamiento taxonómico de las especies de *Neogonodactylus*, para el gen COI, con soporte de máxima verosimilitud, los valores de soporte de cada rama se muestran como SHaLRT (Test de rama única) / UFBoot (bootstrap ultra rápido), en el cual la confianza en un clado se interpreta como >80 y >90, respectivamente. Valores de soporte de las ramas menores al 80% no se muestran en la topología.

## Análisis ecológicos

Se determinó que la especie más abundante en el Pacífico Norte fue *N. costaricensis*, seguido por *N. festae* y *N. zacae*, con 25, 22 y 22 especímenes cada uno. Por el contrario, *N. stanschi* fue la especie menos abundante, con tan solo 2 especímenes colectados. Asimismo, se estimó que las localidades con mayor abundancia de especímenes fueron Bahía Thomas, Isla San José, el Islote Junquillal y Playa Cuajiniquil, mientras que, Bajo Coco, 2 MM, Golondrina y el lado derecho del muelle de Cuajiniquil fueron las localidades donde se encontraron menos especímenes.

Con respecto a la diversidad de especies, se estimó que las localidades insulares, con excepción de Isla San Pedrito, son las que presentaron mayor diversidad (Figura 13). En Isla San José, se observó la mayor diversidad de especies, con cuatro de las seis especies en estudio, no se colectaron muestras de *N. festae* y *N. stanschi*. Por otro lado, Bahía Thomas fue la cuarta localidad más diversa del estudio con la presencia de *N. bahiahondensis*, *N. costaricensis* y *N. festae*, interesante que en esta localidad se encontró la mayor abundancia de *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*, con seis individuos de cada especie. Por su parte, Bajo Rojo y Playa Cuajiniquil, fueron las localidades que presentaron mayor dominancia, específicamente por parte de *N. zacae* y *N. festae*, con un 65% y 68%, respectivamente.

El índice de equitatividad de Pielou, nos indica que hubo tres localidades con el mismo nivel de equitatividad, estas fueron el Muelle, Isla San Pedrito y La gemela, en cada una de estas localidades se observó una relación de uno a uno en abundancia de especies, en el siguiente orden respectivo, *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*; *N. costaricensis* y *N. zacae*; *N. stanschi* y *N. zacae*, La Gemela fue uno de los lugares donde se observó un espécimen de *N. stanschi*, la otra localidad fue Bajo Viejón.

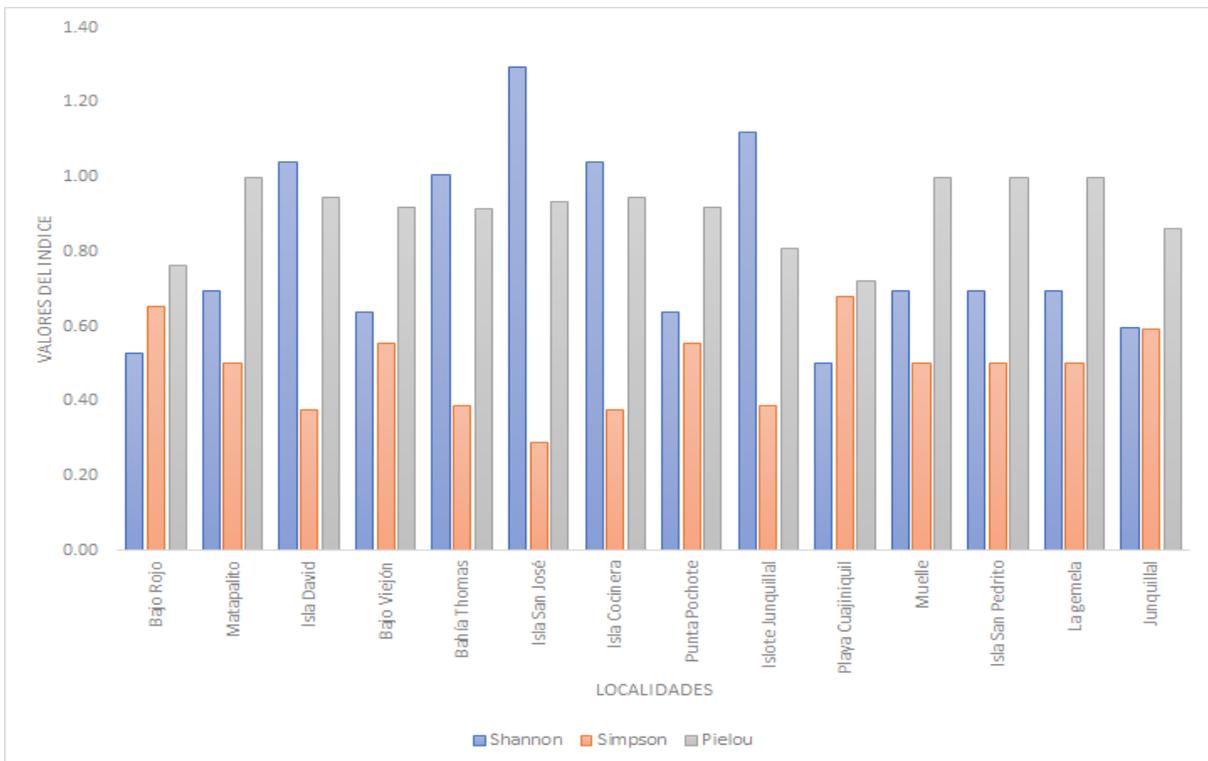


Figura 13. Representación gráfica de los resultados de los índices de Shannon, Simpson y Pielou en cada localidad.

## 5. Discusión

Los decápodos y estomatópodos son considerados como uno de los grupos con mayor diversidad de especies y, además como uno de los grupos mejor representados de la macrofauna bentónica sublitoral en arrecifes rocosos (Alves *et al.*, 2006). Incluso, pueden ser utilizados como indicadores del proceso de tropicalización (migración de especies de los trópicos hacia los polos como un efecto del calentamiento global), bioindicadores de la salud de un ecosistema, indicadores de contaminación y de enriquecimiento orgánico (Alcolado, 2007; Bouzon, 2011; Teschima, Faria-Júnior y Freire, 2012; De la Cruz, 2013). Es relevante mencionar que, para este tipo de estudios es necesario identificar taxonómicamente a las especies, por lo que es fundamental que su identificación sea la correcta.

Pese a que la clave dicotómica de Salgado-Barragán y Hendrickx (2010) es muy clara y se lograron identificar exitosamente a las cinco especies de *Neogonodactylus*, se encontraron ciertas

discrepancias en características diagnósticas, lo que hizo dudar sobre la identificación taxonómica de algunas especies. Por ejemplo, todas las especies, menos *N. stanschi*, presentaron manchas oscuras en la parte dorsal del cuerpo. A pesar de que Salgado-Barragán y Hendrickx (2010) no hacen mención de estas manchas, en la descripción de especies que hicieron Manning y Reaka (1979) señalan que *N. costaricensis* presenta pequeñas manchas oscuras a lo largo de todo su cuerpo. No obstante, en la literatura consultada (Manning & Reaka, 1979; Manning, 1995; Salgado-Barragán & Hendrickx, 1998; Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010) este patrón de manchas no es mencionado en las otras especies.

Una de las características diagnósticas de *N. costaricensis* es la presencia de cuatro manchas en la parte anterior del telson (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010); sin embargo, algunos individuos de *N. zacaе* presentaron diversos patrones de manchas en el telson, lo cual no ha sido reportado en la literatura para esta especie. Al mismo tiempo, algunos especímenes de *N. festae* y *N. zacaе*, presentaron tres manchas entre el cefalotórax y los primeros dos somitos torácicos, no obstante, el patrón de manchas entre los somitos torácicos y abdominales, solo se describe en especímenes preservados de *N. albicinctus*, no colectados en esta investigación (Manning & Reaka, 1979). Por lo tanto, quedan interrogantes sobre el origen y significado de estas manchas, por lo que se manejan diferentes hipótesis, por ejemplo, podrían ser parte de un proceso oncogénico, genético o como resultado de estresantes ambientales. Sin embargo, se requieren más estudios para corroborar esta hipótesis.

*Neogonodactylus bahiahondensis* y *N. costaricensis* son especies muy similares entre sí (Figura 7a, b), con pocas características que las diferencian una de otra (Cuadro 2). Aunque estas características están bien definidas en la literatura (Salgado-Barragán & Hendrickx, 2010), se observaron individuos de *N. costaricensis* con características diagnósticas de *N. bahiahondensis*, por lo que se conformó la categoría de *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis*. Estas similitudes, también se evidencian en el análisis de componentes principales (Figura 9), en donde se puede observar a los individuos que se les asignó esta categoría, traslapan con los individuos de *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*; y en los análisis genéticos (Figuras 10 y 11), en los árboles filogenéticos, todas las muestras de *N. costaricensis*-*N. bahiahondensis* se agruparon como una misma especie. Esto pone aún más en duda la identidad taxonómica de *N. costaricensis* - *N.*

*bahiahondensis*, dejando hipótesis al respecto de la identidad verdadera de esta especie, si se trata de una especie nueva, o una sub-especie, o si es un caso de especie críptica o si estamos observando un caso de hibridación entre *N. bahiahondensis* y *N. costaricensis*, por lo cual, se necesitan más estudios para poder dilucidar correctamente qué es lo que está ocurriendo con esta especie.

Lo que más resalta de los posicionamientos en el árbol, son los clados conformado por *N. festae* y otras especies del género, además de la posición de *N. zacaе* en el árbol de COI, en el cual están agrupados como una misma especie (Figura 12). Con base en las características morfológicas descritas en la literatura (Salgado-Barragán y Hendrickx, 1998; Salgado-Barragán y Hendrickx, 2010), las especies, *N. zacaе* y *N. festae*, presentan la mayor variación morfológica en comparación con el resto de las especies del presente estudio (Figura 8c, 8d), por lo tanto, desde un punto de vista morfológico, las agrupaciones esperadas deberían ser exclusivamente intraespecíficas. A pesar que el posicionamiento taxonómico no respalda este tipo de agrupaciones (Figura 11), la distinción basada en caracteres morfológicos está apoyada por el análisis de componentes principales (Figura 10), en el cual, cada una de estas especies está bien definida y completamente diferenciada del resto. Adicionalmente, cabe mencionar que, de manera general, ciertos posicionamientos y agrupaciones taxonómicas observadas en el árbol filogenético, tienen bajo soporte, por lo tanto, para poder aclarar de manera íntegra las relaciones de las especies del género *Neogonodactylus*, se requiere mayor cantidad de muestras para un análisis filogenético más robusto, también se podría realizar un análisis utilizando una región mayor del gen COI o inclusive toda su longitud.

Los genes utilizados en este trabajo han sido utilizados en estudios de relaciones filogenéticas de estomatópodos (Barber & Erdmann, 2020; Zhang, 2009; Ahyong & Jarman, 2009; Porter *et al.*, 2010) a diferentes niveles taxonómicos. Esto se debe a que ambos genes son altamente informativos filogenéticamente, por lo cual, ofrecen un buen nivel para la resolución y discriminación de conflictos taxonómicos entre especies. De manera general, el gen COI ha sido empleado en una gran variedad de estudios de sistemática molecular para la identificación de animales (Paul, Pal & Banerjee, 2020). En el caso específico de estomatópodos, ha sido utilizado para discriminar especies y en filogeografías intraespecíficas. Por ejemplo, en un estudio

realizado por Barber y Erdmann (2000), determinan que el gen COI tiene suficiente poder de discriminación para distinguir entre géneros y especies de la familia Gonodactylidae.

No obstante, a pesar de que la combinación del gen nuclear 28s y del gen mitocondrial COI, ha sido utilizada como una herramienta poderosa para aclarar relaciones taxonómicas en estomatópodos, haciendo posible la distinción entre especies (Ahyong & Jarman, 2009; Porter *et al.*, 2010), en este estudio no se puso en evidencia su alto poder para resolver conflictos taxonómicos, esto ya que se observaron diferentes especies asociadas dentro de un mismo clado (Figura 11). Lo anterior, podría atribuirse a los siguientes aspectos: a) la baja cantidad de muestras utilizadas en este estudio provenientes tanto de los muestreos, el museo y de GenBank, lo cual dificulta la capacidad del análisis para dilucidar la identificación de las especies; b) identificación errónea de muestras provenientes de GenBank como *N. bahiahondensis*; c) los cebadores utilizados no poseían una región lo suficientemente informativa para diferenciar a nivel de especies dentro de un mismo género (se recomienda utilizar una región más grande del gen 28s, que consecuentemente sea más informativa para inferencias filogenéticas); d) adicionar en futuros estudios el gen nuclear histona 3, el cual ha sido utilizado recientemente con frecuencia para relaciones filogenéticas de otros crustáceos, específicamente decápodos como se observa en los estudios de Baeza (2016) y Liao y colaboradores (2019).

Por otra parte, en alusión a la diversidad y abundancia de especies, se ha observado que este tipo de información es de suma importancia ya que permite determinar cambios temporales en la composición de especies y también, sirven como base para estructurar planes de conservación (Lozano-Cortés *et al.*, 2012). Es por esta razón que, este estudio recopiló información acerca de la diversidad y abundancia de especies del género *Neogonodactylus* en el Pacífico Norte de Costa Rica. La diferencia de abundancia de especies entre 2015-2016 y 2017-2018, estuvo directamente relacionada con el esfuerzo de muestreo, es decir, número de muestreos por año. Por ejemplo, en 2017 y 2018 disminuyó considerablemente la cantidad de muestreos, específicamente, en octubre del 2017, cuando el país fue afectado de manera significativa por la tormenta tropical Nate (Solano-León, 2019).

El impacto de los huracanes sobre ecosistemas costeros ha sido ampliamente reportado en la literatura (Timant *et al.*, 1994; Mallin & Corbert, 2006; Teschima, Faria-Júnior y Freire, 2012) y se ha determinado que los principales efectos provocados consisten en modificaciones en las tasas de sedimentación y salinidad por la entrada de agua dulce, aumento de turbidez, hipoxia, entre otros (Mallin & Corbert, 2006). La comunidad de crustáceos es altamente susceptible a cambios en la calidad de agua (Teschima, Faria-Júnior y Freire, 2012). Por lo tanto, cambios de salinidad, tasas de sedimentación, turbidez y carga de nutrientes, actúan como factores de transformación en cuanto a estructura y composición de especies (Timant *et al.*, 1994; Mallin & Corbert, 2006; Teschima, Faria-Júnior y Freire, 2012). Esta podría ser uno de los factores que incidieron de forma directa sobre los cambios observados en diversidad y abundancia de especímenes colectados después del huracán Otto (2016) y la tormenta Nate (2019).

Es posible que estos desastres ambientales pudieron alterar las condiciones del agua en el Pacífico Norte de Costa Rica, esto ya que fue uno de los sitios más afectados por la tormenta tropical Nate (Solano-León, 2019). Por lo tanto, la ausencia de especímenes en Bahía Thomas después de esta tormenta, podría deberse a alteraciones ambientales, provocando el desplazamiento de especies hacia otras zonas o incluso una drástica disminución de las poblaciones de estomatópodos en este sitio. Sin embargo, para comprobar estas hipótesis es necesario estudiar de manera detallada la influencia que tuvieron ambos desastres naturales, principalmente Nate, sobre las condiciones ambientales de este sitio y al mismo tiempo, realizar mayor cantidad de muestreos en la zona, con el fin corroborar la presencia/ausencia de estomatópodos en Bahía Thomas. Es importante destacar que Bahía Thomas, a pesar de tener un menor tamaño en comparación a Bahía Santa Elena y, menor número de puntos de muestreo (Figura 3), fue uno de los lugares más diversos y equitativos del estudio (Figura 13). Esto podría deberse a que posee una playa con gran cantidad de escombros y pedazos de coral muerto, lo cual representa excelentes condiciones y oportunidades de hábitat para las especies en estudio.

Por otra parte, al comparar la diversidad de especies entre Islas Murciélagos, también conocidas como Islas Cocineras, con respecto a las demás localidades, se estimó que fueron las que presentaron mayor diversidad (a excepción de Isla San Pedrillo). Este conjunto está conformado por cinco islas (Catalina, Cocinera, Las Golondrinas, San José y San Pedrito), cuya formación geológica, ubicación geográfica e influencia del afloramiento costero, les confiere

condiciones físico-químicas ideales que ofrece gran variedad de ambientes (Bassey-Falas, 2010). Además, se pueden encontrar ocho especies de corales (*Pavona clavus*, *Pavona gigantea*, *Porites lobata*, *Gardinoseris planulata*, *Pocillopora elegans*, *Psamacora stellata* y *Pavona varians*), lo que favorece la belleza escénica de esa zona en específico, lo cual, a su vez, representa un atractivo turístico importante. Desafortunadamente, la gran cantidad de buzos que visita la zona y, por ende embarcaciones, ha generado un impacto negativo o daño en los arrecifes como por ejemplo, desprendimiento de colonias de coral de los arrecifes, lo que representa mayor oportunidad de hábitat para los estomatópodos (Bassey-Falas, 2010). Adicionalmente, Cortés y Jiménez (2003) observaron una mayor tasa de crecimiento de corales escleractinios en la zona del golfo de Papagayo en comparación con el resto del Pacífico oriental. Por otro lado, con respecto a la poca diversidad y abundancia de especies encontradas en Isla San Pedrillo, podría deberse a que es la más pequeña y más alejada de este complejo de Islas (Dauphin y Grayum, 2005). Además, se ha determinado que esta isla no está altamente influenciada por el afloramiento del Golfo de Papagayo (Cortés & Jiménez, 2003).

Finalmente, al comparar la diversidad y abundancia de especies entre sitios según su nivel de protección, en algunos estudios (Ramos-Esplá et al., 2004; FAO, 2011) se ha determinado que la diversidad y abundancia de especies de vertebrados (peces) es mayor en zonas que se encuentran bajo protección, indistintamente del grado de protección, debido a que favorece la disminución de la presión pesquera. En contraste, estudios como el de Edgar y Smith (2009) estiman que la densidad y la riqueza de invertebrados es significativamente mayor en zonas no protegidas, en comparación con zonas protegidas, lo cual coincide con los resultados de este estudio, donde Bahía Thomas presentó una mayor riqueza y diversidad de especies del género *Neogonodactylus*.

Lo anterior, podría deberse a que Bahía Thomas puede llegar a alcanzar hasta los 7 metros de profundidad, y está conformado por colonias de coral en buen estado, mayoritariamente dominada por *P. elegans*, la cual presenta altas tasas de crecimiento (Bassey-Falas, 2010). Otro rasgo a destacar es la asociación de esta especie de coral con el género *Neogonodactylus* tal como fue reportado por Cortés (2017). Adicionalmente, se ha estimado que, en las zonas no protegidas, existe menor presión sobre las presas por parte de los depredadores, y también, varios estudios sugieren que las áreas marinas protegidas son susceptibles al fenómeno denominado cascada trófica, es decir, cambios en la totalidad de la red trófica provocados por los depredadores tope de dicha red, los cuales inciden directamente en la reducción de la capacidad de reclutamiento de las presas y a su vez favorecen cambios indirectos en otros componentes de la red (Casey et al., 2017; Kawamata & Taino, 2021).

Por último, Por otro lado, referente a la abundancia de especies, *N. costaricensis*, *N. zacaе*, y *N. festae* fueron las más abundantes, lo cual concuerda con lo reportado por Reaka (1980), donde indica que *N. costaricensis* puede encontrarse hasta los 20 m, por su parte, es posible encontrar a *N. zacaе* hasta los 64 m y *N. festae* hasta los 15 m de profundidad. Es

relevante mencionar que, entre estas tres especies, *N. zaca* es considerada como la especie más generalista (Reaka, 1980).

## 6. Conclusiones

- Se confirma que el telson y placa del rostro son determinantes para diferenciar entre especies, siendo el ancho de la placa del rostro y el ancho de la base de la placa del rostro las estructuras con mayor relevancia. De manera similar, el lardo de la carina intermedia y el largo de la carina accesoria son las estructuras más en el telson para distinguir entre especies.
- Se ha determinado que algunas especies del género *Neogonodactylus*, son fuente de alimento para individuos juveniles de especies comerciales. Por lo tanto, este estudio sienta las bases sobre la composición de un género de especies relevantes en la cadena trófica, sobre las cuales se puede expandir el alcance de su importancia con una mayor cantidad de investigaciones. Importante destacar *N. bahiahondensis* y *N. zaca*, fueron las especies que se encontraron en una mayor cantidad de localidades. Para *N. zaca*, se confirmó de esta manera, el comportamiento generalista previamente descrito en la especie.
- Las especies del género *Neogonodactylus*, tienen una mayor preferencia hacia hábitats rocosos o que en su defecto posean condiciones que asemejen cavidades o cuevas. Por ejemplo, Bajo Rojo y Playa Cuajiniquil presentan opciones de hábitat limitadas, por lo tanto, fueron de los lugares menos equitativos en la composición de especies observada.
- La tormenta tropical Nate pudo incidir en la variación de la composición de especies del género *Neogonodactylus* en el Pacífico Norte de Costa Rica. Sin embargo, se requieren mayores estudios para confirmar esta teoría.

- Se evidencia la biodiversidad del género *Neogonodactylus*, en Costa Rica, destacando la presencia de lo que podría ser una potencial especie nueva del género *Neogonodactylus*, denominada “*N. costaricensis*–*N. bahiahondensis*”, basado en características morfológicas y genéticas.
- Existe escasa información genética en las bases de datos sobre genes mitocondriales y nucleares del género *Neogonodactylus*, para fines de taxonomía molecular.
- Se reportan secuencias nuevas de las regiones COI y 28S para especies del género *Neogonodactylus*, de la región del Pacífico Tropical Oriental, las cuales serán accesadas a GenBank y podrán ser utilizadas como secuencias de referencia para futuras investigaciones.
- Se hace evidente la necesidad de complementar análisis morfológicos y genéticos para resolver conflictos taxonómicos

## 7. Recomendaciones

- Aumentar la cantidad de estudios en la zona, con el propósito de obtener una base de datos más robusta que permita determinar variaciones espacio-temporales de diversidad y abundancia de especies.
- Ampliar los muestreos en el Pacífico Norte y, añadir estudios oceanográficos con el fin de determinar el efecto de los desastres naturales sobre la diversidad y abundancia de especies en la zona, debido a que son parte fundamental de la cadena trófica de sistemas bentónicos, siendo depredados por peces juveniles y pequeños, así como otros depredadores.
- Estudiar a mayor profundidad la composición de las comunidades continentales e insulares, comparar dicha composición y realizar análisis genéticos para determinar si

existe un intercambio de genes entre estas poblaciones, para determinar las medidas de manejo pertinentes en caso de que sean poblaciones distintas.

- Se recomienda realizar estudios de isótopos estables con individuos juveniles de especies comerciales (peces, pulpos) para determinar cuánto porcentaje de la dieta es ocupado por las especies del género *Neogonodactylus*.
- Aumentar los análisis moleculares en especies del género *Neogonodactylus*, en particular *N. albicinctus* y *N. oerstedii* en Costa Rica. Además, incluir otros marcadores moleculares tales como Histona 3, 18S, 16S, con el objetivo de realizar un análisis multigénico que permita clarificar las relaciones filogenéticas de las especies del género.
- Considerar ampliar la zona de muestreo para incluir especies del Caribe costarricense dentro de futuros estudios sobre posicionamiento con el objetivo de determinar qué relación existe entre las especies del Pacífico y del Caribe, y determinar a su vez, si son las mismas especies que tienen nombres diferentes o si realmente se trata de especies diferentes, tal como fue el caso de *Aetobatus laticeps* y *Aetobatus narinari*. Cada una de estas posibilidades tendría medidas de manejo diferentes para sus poblaciones.
- Realizar mayor cantidad de estudios, tomando en cuenta análisis morfológicos y moleculares, con el fin de determinar si “*N. costaricensis*–*N. bahiahondensis*” corresponde a una nueva especie, un híbrido o bien, un complejo de especies.

## 8. Referencias bibliográficas

- Abinawanto, A., Intan, M. D. B., Wardhana, W., & Bowolaksono, A. (2019). DNA barcoding reveals underestimated species diversity of mantis shrimp larvae (stomatopods) in Banten Bay, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(6).
- Ahyong, S. T. (1997). Phylogenetic Analysis of the Stomatopoda (Malacostraca). *Journal of Crustacean Biology*, 17, 695-715.

- Ahyong, S. T., & Harling, C. (2000). The phylogeny of the stomatopod Crustacea. *Australian Journal of Zoology*, 48, 607-642.
- Ahyong, S. T., & Jarman, S. N. (2009). Stomatopod interrelationships: preliminary results based on analysis of three molecular loci. *Arthropod Systematics Phylogeny*, 67, 91-98.
- Alcolado, P. M. (2007). Reading the code of coral reef sponge community composition and structure for environmental biomonitoring: some experiences from Cuba. *Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability*. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 3-10.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 21, 403-410.
- Alves, D. F., Cobo, V. J., & De Melo, G. A. (2006). Extension of the geographical distribution of some brachyuran and porcellanid decapods (Crustacea) to the coast of the State of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(4), 1280-1283.
- Andrade-Rodriguez, H. A. (2003). *Age determination in the snapper Lutjanus guttatus (Pisces, Lutjanidae) and investigation of fishery management strategies in the Pacific Coast of Guatemala* [Tesis doctoral, University of Tromsø].
- Arndt, A., Marquez, C., Lambert, P., & Smith, M. J. (1996). Molecular phylogeny of Eastern Pacific sea cucumbers (Echinodermata: Holothurioidea) based on mitochondrial DNA sequence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6, 425-437.
- Arzola-Sotelo, E. A., López-Martínez, J., Herrera-Valdivia, E., & Valdéz-Holguín, J. E. (2012). *Aspectos poblacionales del camarón mantis (Stomatopoda: Squilla spp) componente de la fauna de acompañamiento del camarón en el Golfo de California*. Efectos de la Pesca de Arrastre en el Golfo de California, 187.
- Baeza, J. A. (2016). Molecular phylogeny of porcelain crabs (Porcellanidae: Petrolisthes and allies) from the south eastern Pacific: the genera *Allopetrolisthes* and *Liopetrolisthes* are not natural entities. *PeerJ*, 4, e1805.
- Barber, P. H., & Erdmann, M. V. (2000). Molecular systematics of the Gonodactylidae (Stomatopoda) using Mitochondrial Cytochrome Oxidase C (Subunit 1) DNA sequence data. *Journal of Crustacean Biology*, 20, 20-36

- Bassey-Falas, G. (2010). *Evaluación ecológica de los arrecifes y comunidad coralinas de las Islas Murciélagos y sección norte de la Península de Santa Elena, Pacífico de Costa Rica* (Tesis doctoral, Universidad Nacional).
- Bejarano, E. (2001). Nuevas herramientas para la clasificación taxonómica de los insectos vectores de leishmaniosis: utilidad de los genes mitocondriales. *Biomédica*, 21(2), 182-191.
- Belda, E. J., Kvist, K., Monrós, J. S., Ponnikas, S., & Torralvo, C. (2009). Uso De Técnicas Moleculares y Análisis Discriminantes para diferenciar mediante Biometría. *Ardeola*, 56(1), 85-94
- Bouzon, J. L. 2011. Biodiversidade, Estrutura Espacial e Conectividade das Comunidades Bênticas de Substrato Consolidado das Ilhas Costeiras de Santa Catarina: Implicações para a Conservação. (Tesis doctoral, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil)
- Brown, J. M., Pellmyr, O., Thompson, J. N., & Harrison, R. G. (1994). Phylogeny of *Greya* (Lepidoptera: Prodoxidae), based on nucleotide sequence variation in mitochondrial cytochrome oxidase I and II: congruence with morphological data. *Molecular Biology and Evolution*, 11, 128-141.
- Caldwell, R. L. (1979). Cavity occupation and defensive behaviour in the stomatopod *Gonodactylus festae*: Evidence for chemically mediated individual recognition. *Animal Behaviour* 27, 294-301.
- Caldwell, R. L. (1982). Interspecific chemically mediated recognition in two competing stomatopods. *Marine & Freshwater Behaviour & Physiology*, 8, 189-197.
- Caldwell, R. L. (1985). A test of individual recognition in the stomatopod *Gonodactylus festae*. *Animal Behaviour*, 33, 101-106.
- Caldwell, R. L., & Dingle, H. (1975). Ecology and evolution of agonistic behavior in stomatopods. *Naturwissenschaften*, 62(5), 214-222.
- Carapelli, A., Liò, P., Nardi, F., Wath, E. v. d., & Frati, F. (2007). Phylogenetic analysis of mitochondrial protein coding genes confirms the reciprocal paraphyly of Hexapoda and Crustacea. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 8-20.
- Casey, J. M., Baird, A. H., Brandl, S. J., Hoogenboom, M. O., Rizzari, J. R., Frisch, A. J., ... & Connolly, S. R. (2017). A test of trophic cascade theory: fish and benthic assemblages across a predator density gradient on coral reefs. *Oecologia*, 183(1), 161-175.

- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular biology and evolution*, 17(4), 540-552.
- Cheroske, A. G., Barber, P. H., & Cronin, T. W. (2006). Evolutionary variation in the expression of phenotypically plastic color vision in Caribbean mantis shrimps, genus *Neogonodactylus*. *Marine Biology*, 150(2), 213-220.
- Claverie, T., Chan, E., & Patek. S. N. (2011). Modularity and scaling in fast movements: power amplification in mantis shrimp. *Evolution*, 65(2), 443-461.
- Correa, F., & Bückle, L. F. (1993). Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista Biología Tropical*, 41 (1): 103-110.
- Cortés, J. 2016. *The Pacific coastal and marine ecosystems*, 97-138. In: M. Kappelle (Ed.). *Costa Rican Ecosystems*. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Cortés, J. (2017). Marine biodiversity baseline for Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica: published records. *ZooKeys*, (652), 129.
- Cortés, J., Samper-Villareal, J., & Bernecker, A. (2014). Seasonal phenology of *Sargassum liebmannii* J. Agardh (Fucales, Heterokontophyta) in an upwelling area of the Eastern Tropical Pacific. *Aquatic Botany*, 119: 105-110.
- Cortés, J., Vargas-Castillo, R., & Nivia-Ruiz, J. (2012). Marine biodiversity of Bahía Culebra, Guanacaste, Costa Rica: published records. *Revista de Biología Tropical*, 60, 39-71.
- De la Cruz, V. (2013). *Estructura de las comunidades macrobentónicas y nectónicas asociadas a los sustratos rocosos coralinos del arrecife Lobos, Veracruz, México* [Tesis de maestría, Universidad de Veracruz].
- De Vries, M. S. (2012). *The Feeding Morphology and Ecology of Stomatopod Crustaceans* [Tesis Doctoral, UC Berkeley: Integrative Biology]. Recuperado de: <http://escholarship.org/uc/item/8518z4ct>
- Duarte, L.O., & Garcia, C.B. (1999). Diet of the lane snapper, *Lutjanus synagris* (Lutjanidae), in the Gulf of Salamanca, Colombia. *Caribbean Journal of Science*, 35, 54-63.
- Ebert, D. A., & Cowley, P. D. (2004). Diet, feeding behaviour and habitat utilisation of the blue stingray *Dasyatis chrysonota* (Smith, 1828) in South African waters. *Marine and Freshwater Research*, 54(8), 957-965.

- Edgar, G. J., & Stuart-Smith, R. D. (2009). Ecological effects of marine protected areas on rocky reef communities—a continental-scale analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 388, 51-62.
- Edwards, C. L. (1908). Biometry as a Method in Taxonomy. *The American Naturalist*, 42(500), 537-540.
- FAO, (2011), La ordenación pesquera. 4. Las áreas marinas protegidas y la pesca. FAO Orientaciones técnicas para la pesca responsable. Supl. 4. Roma, FAO. 2011. 241p.
- Feller, K. D., Cohen, J. H., & Cronin, T. W. (2015). Seeing double: visual physiology of double-retina eye ontogeny in stomatopod crustaceans. *Journal of comparative Physiology*, 201 (3), 331-339.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Hamano, T., & Matsuura, S. (1984). Egg laying and egg mass nursing behaviour in the Japanese mantis shrimp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50, 1969-1973.
- Hillis, D. M., & Dixon, M. T. (1991). Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66, 411-453
- Hwang, U.-W., & Kim, W. (1999). General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *The Korean journal of parasitology*, 37(4), 215.
- Itagaki, T., Tsutsumi, K. I., Ito, K., & Tsutsumi, Y. (1998). Taxonomic status of the Japanese triploid forms of *Fasciola*: Comparison of mitochondrial ND1 and COI sequences with *F. hepatica* and *F. gigantica*. *Journal of Parasitology*, 84: 445-448.
- Jackson, J. B., Cubitt, J. D., Keller, B. D., Batista, V., Burns, K., Caffey, H. M., & Guzman, H. M. (1989). Ecological effects of a major oil spill on Panamanian coastal marine communities. *Science*, 243(4887), 37-44.
- Jiménez, C., & Cortés, J. (2003). Growth of seven species of scleractinian corals in an upwelling environment of the eastern Pacific (Golfo de Papagayo, Costa Rica). *Bulletin of Marine Science*, 72(1), 187-198.

- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., & Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, 14(6), 587-589.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780.
- Kawamata, S., & Taino, S. (2021). Trophic cascade in a marine protected area with artificial reefs: spiny lobster predation mitigates urchin barrens. *Ecological Applications*, e02364.
- Layman, C.A., & Allgeier, J.E. (2012). Characterizing trophic ecology of generalist consumers: a case study of the invasive lionfish in The Bahamas. *Marine Ecology Progress Series*, 448.
- Liao, Y., Ma, K. Y., De Grave, S., Komai, T., Chan, T. Y., & Chu, K. H. (2019). Systematic analysis of the caridean shrimp superfamily Pandaloidea (Crustacea: Decapoda) based on molecular and morphological evidence. *Molecular phylogenetics and evolution*, 134, 200-210.
- Lozano-Cortés, D., Londoño-Cruz, E., Izquierdo, V., Arias, F., Barona, M., & Zambrano, V. (2012). Checklist of benthonic marine invertebrates from Malaga Bay (Isla Palma and Los Negritos), Colombian Pacific. *Check List*, 8(4), 703. doi:10.15560/8.4.703
- Magurran, A. E. (1988). *Diversity indices and species abundance models*. In *Ecological diversity and its measurement*, 7-45. Springer Netherlands.
- Mallatt, J. M., Garey, J. R., & Shultz, J. W. (2004). Ecdysozoan phylogeny and Bayesian inference: first use of nearly complete 28S and 18S rRNA gene sequences to classify the arthropods and their kin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 178-191
- Mallin, M. A., & Corbett, C. A. (2006). How hurricane attributes determine the extent of environmental effects: Multiple hurricanes and different coastal systems. *Estuaries and Coasts*, 29(6), 1046–1061. doi:10.1007/bf02798667
- Manning, R. B. (1995). Stomatopod Crustacea of Vietnam: the legacy of Raoul Serène. *Crustacean research*. Special number, (4), 1-339.
- Manning, R. B., & Reaka, M. L. (1979). 3 New stomatopod crustaceans from the Pacific Coast of Costa Rica. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 92, 634-639.
- Marshall, J., Cronin, T. W., & Kleinlogel, S. (2007). Stomatopod eye structure and function: a review. *Arthropod Structure & Development*, 36(4), 420-448.

- Mattes, W. (1998). The basics of the polymerase chain reaction. *PCR Protocols in Molecular Toxicology*, 1-39.
- Minh B.Q., Nguyen M.A.T., and von Haeseler A. (2013) Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular Biology and Evolution*, 30,1188-1195.
- Morgan, S. G., & Goy, J. W. (1987). Reproduction and larval development of the mantis shrimp *Gonodactylus bredini* (Crustacea: Stomatopoda) maintained in the laboratory. *Journal of Crustacean Biology*, 7(4), 595-618.
- Nguyen L.-T., Schmidt H.A., von Haeseler A., and Minh B.Q. (2015) IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 32:268-274.
- Paskewitz, S. M., & Collins, F. H. (1990). Use of the polymerase chain reaction to identify mosquito species of the *Anopheles gambiae* complex. *Medical and veterinary entomology*, 4(4), 367-373.
- Paskewitz, S. M., & Collins, F. H. (1990). Use of the polymerase chain reaction to identify mosquito species of the *Anopheles gambiae* complex. *Medical and veterinary entomology*, 4(4), 367-373.
- Paul, P., Pal, P., & Banerjee, E. (2020). Genetic variation of Indian Camel (*Camelus dromedarius*) breeds using mitochondrion COI gene analysis. *J Bio Med Open Access*, 1 (2), 112
- Porter, M. L., Zhang, Y., Desai, S., Caldwell, R. L., & Cronin, T. W. (2010). Evolution of anatomical and physiological specialization in the compound eyes of stomatopod crustaceans. *Journal of Experimental Biology*, 213(20), 3473-3486.
- Rambaut, A. (2009). FigTree v1.4. 2012-2014. Recuperado de <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Ramos-Esplá, A. A., Valle-Pérez, C., Bayle-Sempere, J.T., & Sánchez-Lizaso, J.L. (2004). Áreas marinas protegidas como herramientas de gestión pesquera en el mediterráneo (Área COPEMED). Unidad de Biología Marina, Departamento de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, Universidad de Alicante, E-03080 Alicante (España). Pp 157
- Reaka, M. L., & Manning, R. B. (1980). The distributional ecology and zoogeographical relationships of stomatopod Crustacea from Pacific Costa Rica. *Smithsonian Contribution to the Marine Sciences*, 7, 1-29.

- Reaka, M. L., & Manning, R. B. (1981). The behavior of stomatopod Crustacea, and its relationship to rates of evolution. *Journal of Crustacean Biology*, 1(3), 309-327.
- Reaka, M. L., Camp, D. K., Álvarez, F., Gracia, A. G., Ortiz, M., & Vázquez-Bader, A. R. (2009). *Stomatopoda (Crustacea) of the Gulf of Mexico*, in Felder, D.L. and D.K. Camp (eds.), *Gulf of Mexico—Origins, Waters, and Biota. Biodiversity*, 901–921) Texas A&M University Press, College Station, Texas.
- Salgado-Barragán, J., & Hendrickx, M. E. (2010). Clave ilustrada para la identificación de los estomatópodos (Crustacea: Hoplocarida) del Pacífico oriental. *Revista mexicana de biodiversidad*, 81, 1-49.
- Salgado-Barragán, J., Hendrickx, M. E., & Galvan-Villa, C. M. (2013). New records of gonodactylids (Crustacea: Stomatopoda: Gonodactylidae) from the Pacific Coast of Mexico with remarks on the morphology of *Neogonodactylus lalibertadensis* (Schmitt, 1940). *Zootaxa*, 3681(2), 155-162.
- Sanz, M. M. (2005). De la taxonomía tradicional a las filogenias moleculares. *Real Sociedad Española de Historia Natural*, 1-4.
- Saucedo, M. (2000). *Alimentación natural de juveniles de Lutjanus peru (Nichols & Murphy, 1922) y Lutjanus guttatus (Steindachner, 1869) (Lutjanidae: Perciformes) en la costa de Jalisco y Colima, México* [Tesis Doctoral, Universidad de Colima].
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., ... & Tinevez, J. Y. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods*, 9(7), 676-682.
- Schram, F. R., Ahyong, S. T., Patek, S. N., Green, P. A., Rosario, M. V., Bok, M. J., ... & Feller, K. D. (2013). Subclass Hoplocarida Calman, 1904: Order Stomatopoda Latreille, 18171. In *Treatise on Zoology-Anatomy, Taxonomy, Biology. The Crustacea*, 4(A), 179-355.
- Sibaja-Cordero, J. A., & Cortés, J. (2008). Vertical zonation of rocky intertidal organisms in a seasonal upwelling area (Eastern Tropical Pacific), Costa Rica. *Revista Biología Tropical*, 56(4), 91-104.
- Simon C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction “primers”. *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 651-701

- Solano-Barquero, A. (2011). *Macrofauna asociada a rodolitos en el Parque Nacional Isla del Coco, Costa Rica* [Tesis, Licenciatura, Universidad de Costa Rica]
- Solano-León, E. H. (2019). *Análisis de las imágenes del satélite GOES-ESTE sobre Costa Rica durante la Tormenta Tropical Nate* [Tesis de Maestría, Universidad de Costa Rica].
- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en Discapacidad*, 2(2), 70-78.
- Teschima, M. M., Faria Júnior, E., & Freire, A. S. (2012). New records of marine mantis shrimp, crabs and lobsters (Crustacea) from Santa Catarina State, southern Brazil (27°15'S 48°25'W). *Marine Biodiversity Records*, 5. doi:10.1017/s1755267212000760
- Timant, J. T., Curry, R. W., Jones, R., Szmant, A., Zieman, J. C., Flora, M., ... Wanless, H. (1994). Hurricane Andrew's Effects on Marine Resources. *BioScience*, 44(4), 230–237. doi:10.2307/1312227
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(W1), W232-W235.
- Van Der Wal, C., Ahyong, S. T., Ho, S. Y., Lins, L. S., & Lo, N. (2019). Combining morphological and molecular data resolves the phylogeny of Squilloidea (Crustacea: Malacostraca). *Invertebrate Systematics*, 33(1), 89-100.
- Vargas, R. (2009). Stomatopods. In *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America*. Springer Netherlands, 193-197.
- Vargas, R., & J. Cortés. (1997). Biodiversidad marina de Costa Rica: Orden Stomatopoda (Crustacea: Malacostraca: Hoplocarida). *Revista Biología Tropical*, 45, 1531 -1539.
- Vargas, R., & Vargas-Zamora, J. A. (2020). Crustaceans (Decapoda & Stomatopoda) from Golfo Dulce (Pacific, Costa Rica) in the collection of the Museum of Zoology, University of Costa Rica. *UNED Research Journal*, 12(1), e2736-e2736.
- Vetter, K. M., & Caldwell, R. L. (2015). Individual Recognition in Stomatopods. In *Social Recognition in Invertebrates*. Springer International Publishing, 17-36
- Zhang, Y. (2009). *The Molecular Phylogeny of Stomatopod Crustaceans Inferred Using Combined COI, 18s and 28s Ribosomal RNA Genes and a Study of the Evolution of Stomatopod Compound Eye* [Tesis Doctoral]. ProQuest.



## 9. Anexos

Anexo 1. Puntos de recolecta de las muestras utilizadas en este estudio.

	<b>Localidad</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>
Bahía Santa Elena	Matapalito	10.93194°N	85.79111°W
	Punta Pochote	10.93134°N	85.79994°W
Golfo Santa Elena	Bajo Viejón	10.95507°N	85.72843°W
	Bajo Rojo	10.94083°N	85.71778°W
Bahía Thomas	Bahía Thomas	10.92722°N	85.7175°W
Sector Murciélago	Isla San José	10.85779°N	85.912550°W
	NE Isla San Pedrito	10.85606°N	85.95141°W
	Isla David	85.71889 °N	85.71889°W
	2 MM	10.85894°N	85.91100°W
	Golondrina	10.85702°N	85.93970°W
	Isla Cocinera	10.84972°N	85.90389 °W
	Otros	Playa Cuajiniquil	10.93944°N
	Muelle lado derecho	10.95187°N	85.70984°W
	Muelle lado izquierdo	10.95219°N	85.710741°W
	Junquillal esquina tamarindo	10.96329°N	85.69287°W
	Islote Junquillal	10.96343°N	85.69708°W